FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Année 1968 No 134

THESE

PRÉSENTÉE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

DIEMER Denise épouse WEILL

née le 30 janvier 1927 à Strasbourg (Bas-Rhin)

Etude du diamètre érythrocytaire et de son apport aux techniques biométriques

---

Président: R. WAITZ, Professeur

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Année 1968 No 134

THESE

PRÉSENTÉE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

DIEMER Denise épouse WEILL

née le 30 janvier 1927 à Strasbourg (Bas-Rhin)

Etude du diamètre érythrocytaire et de son apport aux techniques biométriques

---

Président: R. WAITZ, Professeur

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552704_0022

FACULTE DE MEDECINE DE STRASBOURG

Doyen	MM. CLAVERT Jean
Doyens honoraires	CALLOT Jacques
	FONTAINE René
Assesseur	CALLOT Jacques

PROFESSEURS TITULAIRES

MM. ARON Claude	Histologie
BASSET André	Clinique Dermatologique
BUCK Paul	Chirurgie Infantile
CALLOT Jacques	Parasitologie et Médecine Tropicale
CHAMBRON Jacques	Physique Biologique
CHAUMONT André	Médecine Légale et Sociale
CLAVERT Jean	Embryologie et Morphologie expérimentale
FONTAINE René	Clinique Chirurgicale A
GANDAR Robert	Clinique Gynécologique et Obstétricale 1
GREINER Georges	Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
GROS Charles	Electro-radiologie
JUNG Adolphe	Chaire de Pathologie et Clinique Séméiologique Chirurgicales
KAMMERER Théophile	Clinique Psychiatrique
KAYSER Charles	Physiologie
KLEIN Marc	Biologie Médicale
KORITKE Jean-Georges	Anatomie Normale
LE GAL Yvon	Anatomie Pathologique
MANDEL Paul	Chimie Biologique
METZ Bernard	Physiologie Appliquée
METZGER Henri	Thérapeutique
MINCK Raymond	Chaire de Bactériologie, Virologie et Immunologie Générale.
MULLER Pierre	Clinique de Maternité
NORDMANN Jean	Clinique Ophtalmologique
OUDET Pierre	Pneumo-phtisiologie
SACREZ Robert	Pédiatrie et Puériculture
SCHWARTZ Jean	Pharmacologie et Médecine expérimentale
STAHL Jules	Clinique Médicale B
STEPHAN Frédéric	Pathologie générale expérimentale
N...	Clinique Neurologique
VEDRINE Jean	Stomatologie
WAITZ Robert	Hématologie
WARTER Julien	Clinique Médicale A
WEISS Alfred	Clinique Chirurgicale B
N...	Hydrologie
N...	Hygiène

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

MM. BRONNER Albert	Clinique Ophtalmologique
KARLI Pierre	Biologie Médicale

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL (Suite)

MM.	MARESCAUX Jean	Histologie
	MARX Charles	Physiologie
	MAYER Georges	Hématologie
	ROHMER Francis	Clinique Neurologique
	SEROR Joseph	Pathologie Chirurgicale
	WINCKLER Georges	Anatomie
	WITZ Jean-Paul	Clinique Chirurgicale B

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	BATZENSCHLAGER André	Anatomie Pathologique
	BOLLACK Claude	Clinique Chirurgicale A
	BURGHARD Guy	Pneumo-Phtisiologie
	CHAMBON Pierre	Chimie Biologique
	DORNER Marc	Clinique Médicale B
	ISCH François	Clinique Neurologique
	JAHN Henri	Clinique Médicale B
	KIRN André	Hygiène
	LAVILLAUREIX Jean	Bactériologie
	MANTZ Jean-Marie	Clinique Médicale A
	MARCOUX François	Médecine Légale.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM.	ADLOFF Michel	Clinique Chirurgicale B
	APROSIO Norbert	Anatomie
	ASCH Léopold	Clinique Médicale A
	BLOCH Roger	Pharmacologie
	BLOCH Pierre	Electro-Radiologie
	BOCKEL René	Clinique Médicale B
	BRINI Alfred	Clinique Ophtalmologique
	EBTINGER René	Clinique Psychiatrique
	FINCKER Louis	Clinique Médicale B
	GAUTHIER-LAFAYE Pierre	Département d'Anesthésiologie
	GRENIER Jacques	Clinique Chirurgicale B
	HERAN Jacques	Pathologie expérimentale
	ISRAEL Lucien	Clinique Psychiatrique
	JUIF Jean	Pédiatrie et Puériculture
	KEILING Roger	Electro-Radiologie
	KELLER Bernard	Gynécologie et Obstétrique 2 (Maternité)
	KEMPF François	Electro-radiologie (Clinique Médicale A)
	KEMPF Yvan	Pathologie Chirurgicale (Centre de Traumatologie)
	KIENY René	Clinique Chirurgicale A
	KREMER Michel	Parasitologie
	LANG Gabriel	Hôpital Orthopédique Stéphanie
	LEVY Jean-Marc	Pédiatrie et Puériculture
	MALEVILLE Jean	Clinique Dermatologique
	MAURER Charles	Clinique Médicale B
Mme	MAYER Simone	Hématologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES (Suite)

MM. MEHL Jacques	Médecine Légale
PHILIPPE Emile	Anatomie Pathologique
ROEGEL Emile	Pneumo-phtisiologie
ROHMER Albert	Institut de Puériculture
SACREZ André	Clinique Médicale A
SCHAFF Georges	Physiologie
SCHNEEGANS Ernest	Pédiatrie et Puériculture
SCHVINGT Eugène	Clinique Chirurgicale B
SIBILLY Abel	Clinique Chirurgicale A
VERGNES René	Physique Biologique
VINCENDON Guy	Chimie Biologique
VOEGTLIN Raymond	Clinique Médicale A
WACKENHEIM Auguste	Electro-radiologie (Clinique Neurolngique)
WALTER Jean-Pierre	Electro-Radiologie
WARTER Pierre	Electro-Radiologie (Clinique Chirurgic. A)
WEILL Jean-Pierre	Clinique Médicale A
WILLARD Daniel	Pédiatrie et Puériculture

PROFESSEUR ASSOCIE

M. PHILIPPIDES Demètre	Clinique Neurologique

A G R E G E S

MM. CHAMPY Maxime	Stomatologie
FRANCK Robert	Stomatologie
KLOTZ Gilbert	O.R.L.

AGREGES LIBRES

MM. BEYER Paul	MM. KUHLMANN Daniel
FORSTER Emile	KUNTZMANN Jean
HOLLENDER Louis	MULLER Jean-Nicolas.

DIRECTEUR DE L'INSTITUT DENTAIRE

M. le Professeur VEDRINE Jean

CHARGES D'UN COURS D'ENSEIGNEMENT COMPLEMENTAIRE

MM. MOISE, SINGER, TISSIER.

SECRETAIRE PRINCIPAL DE LA FACULTE DE MEDECINE

M. Gilbert KIEHL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ARON Max	MM. ROHMER Paul
BURGER Paul	SCHMID Frédéric
BENOIT Jacques	THIODET Jean
ROEDERER Jean	VINTEMBERGER Pierre

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ni les approuver, ni les improuver.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Etre suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs, ni à favoriser les crimes.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants, l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis resté fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

A LA MEMOIRE DE MES PARENTS

en témoignage de ma reconnaissance émue et de mon profond attachement filial.

A MON EPOUX,

A MES FILS

Expression de mon dévouement et de ma tendresse.

MEIS ET AMICIS.

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR R.WAITZ

COMMANDEUR DE LA LEGION D'HONNEUR
ROSETTE DE LA RESISTANCE
PROFESSEUR D'HEMATOLOGIE·

DIRECTEUR
DU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE.

Qui a inspiré ce travail et m'a guidée de son expérience et de ses précieux conseils.

Sa conscience professionnelle, sa pensée scientifique et son enseignement représentent pour moi le meilleur de ce qun Maître peut donner à son élève.

En témoignage de ma profonde reconnaissance et de mon respectueux attachement.

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY

MONSIEUR LE PROFESSEUR R.FONTAINE

COMMANDEUR DE LA LEGION D'HONNEUR
ROSETTE DE LA RESISTANCE
DOYEN HONORAIRE DE LA FACULTE DE MEDECINE
PROFESSEUR DE CLINIQUE CHIRURGICALE

DIRECTEUR
DE LA CLINIQUE CHIRURGICALE A.

Qui nous a fait l'insigne honneur de faire partie du Jury de notre thèse.

Hommage de profonde gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR G.MAYER

PROFESSEUR D'HEMATOLOGIE

DIRECTEUR-ADJOINT
DU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE

Pour l'intérêt qu'il a bien voulu nous porter en nous faisant l'honneur de nous juger.

Avec l'expression de nos sentiments reconnaissants.

MADAME LE PROFESSEUR S.MAYER

MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

En marque de respectueuse gratitude pour la compréhension et la constante bienveillance qu'elle nous a témoignées.

A LA MEMOIRE DE MONSIEUR LE DOCTEUR J.LEWIN

DIRECTEUR-ADJOINT
DU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE

Qui nous a encouragé à terminer ce travail et nous a entourée de toute sa bonté et de sa sollicitude.

Nous avons perdu en lui un précieux conseiller et nous lui gardons un souvenir reconnaissant.

A NOS PROFESSEURS
DE LA FACULTE DE MEDECINE DE STRASBOURG.

ETUDE DU DIAMETRE ERYTHROCYTAIRE
ET DE SON APPORT AUX TECHNIQUES BIOMETRIQUES

PLAN

Introduction

Il s'agit d'une contribution à l'étude des anisocytoses par la détermination du diamètre globulaire moyen,ces mesures étant effectuées à l'aide d'une technique donnée. La place que tient la connaissance du diamètre globulaire parmi les méthodes de l'érythrocytométrie moderne, la construction d'une courbe de fréquence, la détermination de populations cellulaires différentes permettent l'étude du mécanisme physiopathologique de certaines hémopathies, la confirmation d'un diagnostic et l'éventualité d'un pronostic.

Historique

Travaux anciens et plus récents de LARSEN, CAZAL, CREYSSEL, etc.

Moyens d'étude

I - Travaux effectués par les hématologistes dans le domaine de la biométrie érythrocytaire jusqu'à présent.
Récapitulation et synthèse des méthodes employées.

- Les techniques de l'érythrocytométrie.
  a) Exposé des différentes techniques de mensuration.
  b) Leur étude critique.
  c) Indications que l'on peut en tirer.
  d) Valeur de ces méthodes : la mise au point et la notion capitale qui se dégagent des travaux de PRICE-JONES : l'élaboration d'une courbe de Gauss et son interprétation mathématique, permettant de calculer de nouvelles constantes érythrocytaires (graphiques : courbe d'un sujet normal, courbe d'un sujet pathologique : interprétation mathématique).

II - Travaux personnels
  a) Nouvelle méthode utilisée
    - exposé
    - indications concernant le milieu de suspension glob. (Eau d'Uriage).
    - avantages techniques et modalités d'application de la méthode utilisée.
  b) Mise en pratique de cette méthode lors de l'étude,
    1. De 20 cas normaux, permettant d'établir les moyennes de normalités de diamètre et les zones graphiques correspondantes - Tableau I et II.
    - Discussion.
    2. De 10 cas pathologiques
      a) Etude de quelques cas d'hémopathies types.
      b) Etude de l'évolution de certains cas pathologiques par la mensuration du diamètre érythrocytaire à l'aide de graphiques sériés (voir Tableau III).
    - Interprétation des faits et conclusions physiopathologiques.
    - Valeur diagnostique et pronostique des courbes en tant que composantes de l'hémogramme.

3. Etude comparative des diamètres globulaires dans les deux catégories :

- Variations des diamètres et variations du volume globulaire.
- Rapport des volumes globulaires moyens avec courbes comparatives normales et pathologiques.
- Valeur de cette étude dans l'élaboration d'un bilan hématologique.

Conclusion

Mise au point d'une technique de mensuration du diamètre globulaire dans un nouveau milieu de suspension : l'eau d'Uriage.

Résultats pratiques : nouveau moyen d'étude du diamètre globulaire avec une plus grande exactitude, démontré par les courbes de répartition des diamètres érythrocytaires.

Mise en évidence d'un degré de rétraction variable des hématies à l'état frais et sec en fonction de l'état physiopathologique des hématies étudiées. Contribution de ces données biocytométriques à l'élaboration d'un diagnostic, voire d'un pronostic, à l'orientation d'une thérapeutique.

INTRODUCTION

Le problème de l'anisocytose, sa signification clinique et pathologique, son importance diagnostique et pronostique ont particulièrement attiré l'attention des chercheurs. Quelques revues et des monographies complètes (PRICE-JONES, 71 (1), ARCHI, 3) ont été consacrées à l'étude de cette importante particularité hématologique.

La notion d'une anisocytose physiologique, et plus encore l'étude de ses modifications dans un certain nombre d'états morbides, ont conduit à d'intéressantes conclusions d'ordre biopathologique ainsi qu'à de nouveaux moyens d'investigation diagnostique.

Au cours de ces vingt dernières années, l'analyse hématologique a fait de grands progrès en ce qui concerne l'étude des hématies et des érythropathies. Les recherches théoriques entreprises depuis longtemps par HADEN (36), par WINTROBE (91), par PRICE-JONES et de nombreux autres auteurs, se sont révélées riches en applications pratiques. Des procédés nouveaux d'investigation ont été mis au point ; si bien que l'examen hématologique standard consistant en une numération globulaire, un dosage de l'hémoglobine et une formule leucocytaire, le tout pratiqué sur quelques gouttes de sang prélevé au doigt n'est plus suffisant pour qui s'intéresse de plus près à la physiopathologie sanguine.

On ne saurait cependant ramener l'hématologie à un ensemble de mesures physico-chimiques et de constantes érythrocytaires résolues à l'aide de formules algébriques, en négligeant l'observation clinique. Une

érythropathie ne peut se réduire à un profil globulaire chiffré.

Notre intention dans ce travail est de montrer l'intérêt d'une méthode de laboratoire peu répandue :

a - dans l'élaboration de l'hémogramme type, la mesure du diamètre moyen des hématies trouve sa place.

b - dans certaines hémopathies, le diamètre globulaire viendra compléter le bilan hématologique et confirmer les données cliniques.

La mesure des différentes constantes globulaires présente un double aspect :

- L'établissement des données moyennes montrant les déviations des dimensions, de la forme de l'érythrocyte. Ces mesures sont pratiquement les seules possibles en ce qui concerne les dimensions cubiques. L'oeil peut apprécier de façon approximative l'épaisseur des globules, l'anisocytose, leur concavité, leur tendance sphérocytaire, mais il ne peut être question de cette manière d'en donner une expression même approximative.
- Pratiquement, la seule mesure applicable à un certain nombre d'hématies, chacune étant considérée individuellement, est la mesure du diamètre globulaire qui permet une étude statistique des variations normales et pathologiques de cet élément.

C'est pourquoi nous envisagerons deux points :

- la mesure des valeurs moyennes des hématies.
- l'étude des variations normales et pathologiques de la taille de ces éléments.

HISTORIQUE

Après la découverte des cellules sanguines par LEEUWENHOECK, GROEN, en 1674, mesurait déjà les hématies, mais sa technique était si aléatoire que JURIN et HALE conclurent à son inutilité. Plus tard, d'autres tentèrent des mesures semblables, mais sans résultats valables, jusqu'au milieu du XIX°. C'est alors que la technique microscopique prit un tel essor, que les mesures donnèrent des résultats -plus ou moins concordants- il est vrai.

Le premier essai fait en vue de déterminer le volume des érythrocytes fut tenté par HARTING en 1859, WELCKER en 1864 et LIMBECK en 1866. Plus tard, il fut repris par nombre d'auteurs qui se servirent de l'hématocrite.

HAYEM (38), cependant, suivi par PIJPER (64) et YOUNG, reprit cette étude.

En 1889, HAYEM suggéra l'emploi de l'indice colorimétrique en tant que moyen de mesure de la taille des cellules sanguines et en 1919 PIJPER redécouvrit que le diamètre moyen des érythrocytes pouvait être déterminé par diffraction (halométrie, ériométrie). Cette méthode fut décrite pour la première fois par Ths. YOUNG en 1823.

La taille des érythrocytes peut ainsi être déterminée par quatre méthodes différentes. Par halométrie on peut déterminer le diamètre globulaire moyen ; par la méthode de l'hématocrite et par la détermination de l'index colorimétrique on obtient une appréciation du volume moyen. Mais

il n'y a qu'une méthode qui renseigne aussi sur la distribution du diamètre globulaire autour de la moyenne : il s'agit d'un procédé où l'on mesure le diamètre d'un certain nombre de globules et où l'on calcule alors le diamètre moyen.

Les grands travaux de recherches de la période moderne sont complétés par l'étude de la biocytométrie. HADEN en 1923, puis en 1932 (36 -1), donne les notions sur le volume globulaire et la concentration hémoglobinique. WINTROBE en 1933 donne une statistique portant sur 229 mesures de volume globulaire chez des sujets normaux. PRICE-JONES en 1935, définit la courbe statistique des diamètres globulaires et étudie le profil érythrocytaire ; c'est là une véritable mise au point de la question du profil globulaire. OSGOOD, à la même époque, établit les valeurs normales de l'hémogramme.

Depuis, nombreux sont les auteurs qui se sont attachés à l'étude des constantes érythrocytaires, dont le diamètre globulaire. SHORT, KENNEDY, MILLER, PIPER, PONDER reprennent ces notions et WINTROBE (91 -3), en 1946, fait une mise au point de ces mesures. Il établit la classification morphologique des anémies, en intégrant les valeurs de volume et de diamètre globulaire dans les constantes érythrocytaires. A la même date, DAMESHEK expose ses théories sur les syndromes hémolytiques en faisant la part de la morphologie érythrocytaire dans le processus de destruction globulaire.

FERRATA et STORTI (25), CHEVALLIER, LARSEN (46), TOTTERMAN, CAZAL et CAMO (17) en France, étudient cette question. C'est en 1947/1948 que CAZAL (16) fait une synthèse des travaux réalisés à ce jour et met au point les techniques employées. Enfin, en entamant une étude approfondie de l'histophysiologie du globule rouge et de sa mensuration, CREYSSEL et BOSSON (19) en 1951 font ressortir l'importance et la nécessité d'une détermination précise du diamètre globulaire parmi d'autres constantes

érythrocytaires.

Bien d'autres noms seraient à citer, mais nous n'avons pas l'intention de faire ici un historique détaillé, nous n'avons voulu que donner les étapes de l'évolution dans le temps, de la notion d'anémie et de son étude par l'érythrocytométrie.

En abordant l'évolution biométrique des éléments rouges, nous donnerons un développement important à l'exposé des données concernant les variations de la biométrie normale du globule rouge.

Les chiffres que nous retenons ici sont tirés d'importantes statistiques américaines ; nous les avons choisis car ils semblent correspondre à ceux que suggère notre plus modeste expérience.

Nous discuterons dans un autre chapitre les variations de ces chiffres en fonction des différentes techniques utilisées.

L'interprétation des données obtenues par l'étude du sang périphérique d'un adulte malade nécessite la connaissance des chiffres normaux et de leur variation dans les conditions physiologiques. De nombreux travaux ont été consacrés à cette question, les manuels de WHITBY, ROHR, WINTROBE, HEILMEYER, les articles de CAZAL, LARSEN, HINGLAIS nous apportent les données que nous-mêmes avons rencontrées.

Il apparaît que les variations les plus importantes sont celles qui sont en rapport avec l'âge et le sexe. Cependant, la connaissance des autres facteurs permet d'établir les conditions favorables à un examen minutieux et scientifique.

La question de la biométrie globulaire et du milieu de suspension propice à la détermination des dimensions globulaires a été très étudiée par de nombreux auteurs qui ont émis et discuté l'hypothèse d'une

origine périphérique des modifications des dimensions globulaires. C'est notamment à propos des modifications biométriques dans les affections hépatiques que cette question a été posée.

LARSEN (46 -1), dans une étude très complète y fait une discussion serrée de cette question.

WELS (87), dans ses travaux et observations portant sur l'érythrocytométrie en milieu liquide et frottis sec, affirme que tous les globules rouges des témoins examinés rétrécissent d'une quantité égale. L'importance du rétrécissement lors de la dessication est essentiellement déterminée par des facteurs physiques. Correspondant approximativement à un rétrécissement absolu du même ordre de grandeur, le rétrécissement relatif montre des différences chez les hématies de grandeur différente parmi les sujets examinés.

Les globules rouges rétrécissent en sèchant de 0,5 à 1,0 micron. Chaque hématie d'un sujet donné rétrécit probablement, indépendamment de sa taille d'une quantité donnée.

L'importance du rétrécissement n'est influencée chez les sujets examinés ni par la race, ni par la grandeur du diamètre globulaire, mais dépend de facteurs physiques.

Du fait du mouvement brownien moléculaire, les déviations standards sont plus grandes dans le plasma que sur frottis.

Quatre mesures moyennes sont pratiquées, qui, par des artifices de calculs permettent d'autres déterminations. Il s'agit de la numération globulaire, la mesure du volume globulaire total, la détermination de l'hémoglobine et celle du diamètre moyen. Ces quatre mesures permettent d'établir le bilan des constantes biométriques de l'hématie. Nous verrons

par la suite l'établissement de la courbe des fréquences de PRICE-JONES qui apparaîtra comme l'élément le plus fidèle dans l'analyse de la biométrie normale et dans l'interprétation de la biométrie pathologique.

Nous exprimons ces divers éléments selon une nomenclature admise par tous les auteurs qui utilisent cette méthode (WINTROBE, 91 ; CAZAL, 16 ; LARSEN, 46 ; TOTTERMANN en particulier) :

Ht = hématocrite ou volume globulaire total
Vm = volume globulaire moyen en microns cubes
Dm = diamètre moyen en microns
Em = épaisseur moyenne en microns
Sm = surface moyenne en microns carrés
Is = Indice de sphéricité
n = fréquence des hématies dans les différentes classes
N = fréquence totale des hématies
A = coefficient d'anisocytose %
σ = déviation standard
Hb = hémoglobine en grs par 100 cc
GR = nombre des hématies par mm3
VG = valeur globulaire
HCM = hémoglobine globulaire moyenne en $\gamma\gamma$
C = concentration hémoglobinique
CCHM = concentration globulaire moyenne en hémoglobine.

La modification de l'un ou plusieurs de ces facteurs composants biométriques d'un sang donné entraînera des modifications du profil érythrocytaire.

LES TECHNIQUES DE DETERMINATION DU DIAMETRE MOYEN

L'ERYTHROCYTOMETRIE

Le diamètre moyen des hématies est celui qu'aurait une hématie, si elles étaient toutes semblables. Il s'agit donc d'une mesure moyenne basée sur les lois générales de la statistique.

Depuis les travaux fondamentaux de HAYEM (38), et de PRICE-JONES (71 -1), de nombreuses méthodes de mesure ont été préconisées. Seul un fort petit nombre d'entre elles ont une valeur pratique. Quoiqu'il en soit, toutes ces méthodes font appel à deux grands principes de mesure :

1) la mesure des érythrocytes sur frottis de sang coloré ou non, dite "méthode sèche" pour reprendre le terme des auteurs anglo-saxons.

2) la mesure des érythrocytes en suspension soit dans du plasma, soit dans du sérum ou dans un autre liquide biologique, désignée sous le nom de "méthode humide".

Différentes techniques de laboratoire sont utilisées dans l'une et l'autre de ces deux méthodes :

- a) une évaluation rapide du diamètre moyen peut être donnée par la méthode diffractométrique : diffraction d'un faisceau lumineux traversant un étalement sanguin non coloré. Il se produit une suite de spectres

circulaires, concentriques ; la correspondance de ces cercles avec une échelle étalonnée permet de calculer le diamètre moyen (PIJPER). Dans une certaine mesure, la position des anneaux rouges et violets projetés sur l'écran permet d'apprécier le degré d'anisocytose. Les appareils sont divers, depuis l'original de PIJPER (1919) (64 -1), l'halomètre de EVE, l'ériomètre d'EMMONS (24 -2), l'érycythomètre de HADEN (36 -5), jusqu'à l'appareil de TZANCK et BESSIS (83), utilisant la lumière monochromatique. L'étalement sanguin doit être très homogène et d'une épaisseur moyenne lors de l'utilisation de ces appareils.

PIJPER (64 -1) expose le principe de la diffraction et le moyen de l'appliquer, le tout codifié en formule. MILLAR et coll. (69), ont apporté des modifications à ces formules. JORGENSEN et WARBOURG (41) rejettent cette méthode sous le prétexte de résultats pas assez précis, après avoir mesuré 50 cellules. On peut leur reprocher que toutes les mesures directes sont soumises au même facteur d'erreur, celui du trop petit nombre ; alors que pour l'halométrie, il y a danger dans l'inexactitude de lecture, les spectres n'ayant pas de délimitation nette, mais se confondant souvent. PIJPER donne une précision de technique à 1 % près. La valeur pratique de l'halométrie a été démontrée par PIJPER et EVE qui en résument les principes :

1) Plus les cellules sont grandes, plus petits sont les cercles de diffraction.
2) Plus les cercles sont flous, plus l'anisocytose est importante.
3) Plus les images de diffraction sont intriquées, plus la leucocytose est forte.

La technique de PIJPER indique ainsi pour des besoins courants suffisamment bien le diamètre moyen.

La précision relative de l'halométrie est très grande. Il n'y a

pas plus d'un micron d'écart entre les mensurations par méthodes directes et halométriques. Dans ces dernières, la largeur et l'imprécision des cercles mesurent l'anisocytose, l'intrication des cercles indique la leucocytose.

- b) Mesure par projection : on utilise un microscope à projection, l'image de l'hématie étant projetée sur un papier millimétré préalablement étalonné grâce à un micromètre objectif. Lorsque l'hématie n'est pas exactement circulaire, on prend comme diamètre la moyenne des deux axes, les mesures ne s'effectuant pas sur des hématies trop irrégulières.

Le matériel optique recommandé par les différents auteurs (PRICE-JONES, LARSEN) est le suivant : objectif 1/12 Leitz, oculaire Leitz 8, l'immersion se faisant à l'huile. La coloration est faite au May-Grunewald-Giemsa.

De nombreuses variantes à cette méthode sont proposées :
- méthode photographique : une photographie est prise de la préparation et on mesure, après les corrections nécessaires, les différents diamètres.
- LARSEN utilise une caméra qui permet d'éliminer l'erreur des appareils de photographie ordinaires, erreur tenant à la divergence des rayons optiques du centre vers la périphérie de la préparation.

- c) mesure par oculaire micrométrique : c'est la mesure directe de la taille des hématies. On utilise un micromètre préalablement gradué à l'aide d'un objectif micrométrique fréquemment vérifié. On peut employer l'oculaire micrométrique Leitz réglable, beaucoup plus précis. Il convient d'utiliser un microscope de grande précision, objectif achromatique Leitz 1/12, oculaire périplan 8, et prendre de l'huile pour immersion. D'autre part, il faut mesurer des hématies de tailles très différentes, en évitant

les irrégulières, et toujours faire varier l'axe de l'oculaire afin d'éviter les erreurs tenant aux mensurations selon un seul axe. Cette méthode si elle a l'avantage d'être facile, a le grand inconvénient de son extrême longueur.

Ainsi donc, le diamètre des érythrocytes peut être mesuré de beaucoup de façons, la plupart d'entre elles étant plutôt laborieuses et nécessitant un appareillage spécial. Une méthode assez simple, ne demandant pas d'équipement spécial est d'étaler un frottis de sang d'un contrôle normal sur le dessus d'un frottis coloré des érythrocytes à mesurer et de comparer alors les tailles relatives des érythrocytes colorés et non colorés. Cette méthode a été utilisée occasionnellement en Norvège par STAVEM (80) et dans d'autres pays aussi. BESSIS, en 1956 (72), mentionne la méthode, permettant à PITTALUGA d'introduire la méthode. Cette méthode des frottis de sang superposés a cependant des désavantages : il est difficile de faire les deux frottis assez fins à la même place sur lame, pour éviter le chevauchement des érythrocytes colorés et non. Le frottis coloré est souvent endommagé quand le frottis non coloré superposé est étalé ; ensuite, la coloration est susceptible de changer de taille des érythrocytes, cette modification de taille étant habituellement minime.

Toutes ces difficultés seraient évitées, si l'on pouvait mélanger le sang inconnu et celui contrôlé, avant l'étalement du frottis et ensuite décider quels érythrocytes appartiennent à l'un et à l'autre sang. Les érythrocytes d'oiseau sont elliptiques et ont un noyau qui les distinguent des érythrocytes humains. Partant de ces caractéristiques, on a fait des frottis avec un mélange de sang de poule et de sang humain et on a évalué la taille des globules rouges humains en les comparant aux érythrocytes de poules. Le diamètre des érythrocytes de poule est vérifié par opposition à un contrôle de sang humain, avant que ce sang de volatile

soit utilisé pour évaluer la taille des érythrocytes humains.

En reprenant chronologiquement la marche des travaux, nous voyons que GAMNA (20 -1), en 1925, s'attachant à l'étude des modalités d'anisocytose avait proposé une méthode de représentation graphique de celle-ci ; il tenait compte des valeurs du diamètre moyen, mais il exprimait en outre grâce à une formule facile et très rapide à lire, toutes les particularités d'aspect de l'anisocytose. Ce mode de représentation - formule érythrocytométrique - s'est aussitôt largement imposée, précisément à cause de son exactitude et de son caractère pratique ; et même le système optique et la méthode à sec imaginée par GAMMA et par CROSETTI ont rencontré désormais un accueil bienveillant auprès d'un grand nombre de chercheurs.

CROSETTI en effet, la même année, soumit à une critique serrée et à de nombreux rapprochements les diverses méthodes jusqu'alors en usage pour l'étude de l'anisocytose et du diamètre globulaire en particulier, et il conclut en donnant la préférence à la méthode à sec.

- d) Nombre d'hématies à mesurer. JORGENSEN et WARBURG (41) mesurent 500 hématies, GRAM (33), HORNEFFER 100, PRICE-JONES, MOGENSEN (59), POHLE 500 (66), CROSETTI 100, BOROS (11) 200. PRICE-JONES admet que 500 est un chiffre très convenable. Mais LARSEN affirme que 200 globules rouges constituent le nombre convenable pour mesurer dans les conditions normales et pathologiques le diamètre. D'autre part, l'exactitude est assez grande, et l'effort supplémentaire que demande la mensuration de 300 éléments de plus n'est pas justifié par une précision assez nettement accrue. CREYSSEL et BOSSON (19) établissent leurs mesures sur 250 mensurations pour établir la courbe de PRICE-JONES, mais il semble, en pratique, que 100 suffisent pour la seule détermination du diamètre moyen.

Calcul du diamètre moyen

Le diamètre moyen est la moyenne entre les différents diamètres observés lors de la mensuration moyenne où interviennent d'une part les différents diamètres mesurés avec les variations de classes entre chaque diamètre, d'autre part, la fréquence d'hématies rencontrées dans chaque classe. Si DM est le diamètre correspondant à la plus grande fréquence d'hématie, N le nombre total des hématies mesurées, n le nombre d'hématies dans chaque variété de classe d'hématies et 0,5 micron l'écart entre chaque classe de diamètres, le diamètre moyen est égal à :

$$Dm = DM + \frac{\Sigma (n \times E)\ 0,5}{N}$$

E étant la déviation en unité entre les différentes classes.

Critiques du diamètre moyen

Si pour la détermination du diamètre moyen rapide les critiques sont d'un intérêt relatif, au contraire, quand il s'agit de la construction précise de la courbe de PRICE-JONES et des déterminations qu'elles entraînent, ces critiques sont importantes.

A) Facteurs d'erreurs personnelles

Les erreurs occasionnées par l'intervention personnelle sont de moyenne importance et souvent très diminuées par le travail en équipe qui permet leur correction. Le fait que de telles erreurs se produisent a été démontré par LOTTRUP (51) et WARBURG qui en mesurant la même préparation trouvèrent une différence de 0,4 microns entre leurs résultats, en ayant utilisé exactement la même méthode. BOROS (11 -1) et MAYER suivent avec un écart de 0,16 micron, THOMAS et MEANS, MURPHY et FITZHUGH (60) avec 0,20 micron. Cette erreur est plus importante quand on utilise

l'oculaire micrométrique, ceci du fait de l'augmentation du jugement subjectif et d'autre part du fait de la fatigue oculaire qu'entraîne cette méthode, amplifiée par l'interférence entre le contours des globules et l'échelle micrométrique. CAZAL (16), lors des premières mesures effectuées, portant sur des mensurations de 500 GR chez des sujets normaux, constate que les différences obtenues entre deux expérimentateurs ne dépassent pas 0,15 micron. D'autre part, les différences obtenues entre deux expérimentateurs habitués ne dépassent pas 0,10 micron. Il faut toutefois noter que des écarts si faibles sont obtenus par un examen très rigoureux et pour cette raison très astreignant (BOCK et JOMBRES (10), PONDER (67)).

B) Les erreurs techniques

Elles sont de natures différentes et tiennent soit à la préparation de la lame de sang, soit aux méthodes d'examen.

1) Erreurs dues à la préparation de la lame

Dans les préparations en milieu humide (sérum, plasma défibriné), les hématies sont plus grandes que dans leur plasma, alors que dans la solution de HAYEM ou de TYRODE, elles sont plus petites (OHNO-62). L'usage d'anticoagulants peut changer la taille et une conservation prolongée influe aussi sur le diamètre globulaire (JORGENSEN et WARBURG (41)). LARSEN remarque que le diamètre diminue de 7,95 à 7,60 microns, quand on laisse les hématies dans du sérum de la 40^{e} à la 120^{e} minute. Dans le plasma défibriné, il diminue de 7,75 à 7,45 microns de la 60° à la 140^{e} minute, dans l'héparine il augmente de 7,20 à 7,30 de la 120° à la 220^{e} minute, l'oxalate a le même effet. D'autre part, ces hématies étant vues directement sous le microscope dans leur solution, prennent une forme crenelée du fait de la chaleur d'éclairage du microscope peut-être. De plus, la déviation standard subit des modifications dans

tous les cas.

Il n'est pas tout à fait établi si l'étalement ou le séchage jouent un rôle. Déjà Ths YOUNG a noté que les globules ne changent pas leur diamètre pendant l'étalement et ce fait est confirmé plus tard par d'autres chercheurs. D'autre part PONDER et MILLAR (69), PRICE-JONES (71 -1), MANASSEIN (55) et d'autres rapportent que les globules se rétractent en séchant, tandis que COLLATZ trouve que leur diamètre augmente. La coloration et fixation ne semblent pas influencer la taille des globules (GUNTHER (3), BERNSTEIN (6), LEPEL (49), OHNO (62). En étudiant l'action de ces facteurs sur la variation du diamètre moyen mesuré par la méthode photographique, LARSEN constate que

- le pH de la coloration intervient à un degré très faible. En effet, pour un écart de pH 5 - 6 à pH 8,2 , le diamètre moyen passe de 7 microns 52 à 7 microns 81. L'important est donc d'opérer toujours avec les mêmes colorants, de manière à éviter ces variations très infimes.

- l'étalement : l'erreur due à ce facteur est de 0,045 d'après PONDER. PRICE-JONES constatait une diminution du diamètre due à l'étalement. LARSEN admet que le diamètre des globules rouges n'est pas altéré par l'étalement. Jamais cet auteur n'a retrouvé les différences affirmées par PONDER. Par ailleurs, en utilisant la technique de PRICE-JONES, mesurant les plus grands et les plus petits diamètres de chaque cellule et en prenant la moyenne de ces deux chiffres, cette source d'erreurs est toujours éliminée (LARSEN).

Enfin, notons que certains auteurs (MOGENSEN (59), HERNBERG (39), LEPEL (49), LINDGREN) pensent que l'examen avec immersion à l'huile diminue le diamètre ; par phénomène de réfraction sur les bords de la cellule. En fait, cette erreur semble bien négligeable et ne justifie pas l'abandon de cette immersion. L'observation de KAEMMERER (42) disant

que les résultats varient selon l'emploi d'un miroir plan ou concave est à retenir.

Il semble donc que des détails en apparence minimes pourraient jouer un rôle important de façon imprévue. En plus, il faut considérer que les auteurs individuels font les mesures de différentes façons. Ainsi, PRICE-JONES, MOGENSEN et d'autres mesurent le plus grand et le plus petit diamètre et prennent la moyenne de ces deux mesures comme diamètre globulaire. D'autres mesurent seulement le diamètre le plus grand (Mc CORMICK (54)) ou un diamètre quelconque, toutes les méthodes utilisant l'oculomicromètre. Quelques-uns mesurent avec une échelle graduée au 1/2 micron (PRICE-JONES, MOGENSEN), d'autres dessinent les globules sur papier millimétré et comptent les carrés (HERNBERG (39)). D'autres, à nouveau, mesurent l'image projetée directement (GUNTHER (35)). Et finalement, quelques-uns mesurent la surface des érythrocytes et non leur diamètre (MANASSEIN, AGASSE-LAFONT (55)).

2) Erreurs tenant aux techniques utilisées

La méthode de projection : l'erreur personnelle intervient, de même que les facteurs éclairage, projection et position du papier millimétré. Cette erreur porte surtout sur la déviation standard, et le taux de variation reste cependant faible.

La photographie : le facteur le plus important est le dispositif optique, objectifs, prise de vue, temps de pause. D'autre part, le fait que seules les parties planes de la lame soient photographiées, fait intervenir une erreur supplémentaire. Ce facteur est évité par l'appareil de LARSEN. De plus, la lumière employée intervient.

L'oculaire micrométrique : il est certain que cette méthode entraîne des erreurs plus importantes que les précédentes, tenant surtout

au facteur personnel et à l'irrégularité de l'optique quand celle-ci n'est pas contrôlée. Nous avons donné les erreurs admises par différents auteurs concernant les variations personnelles. Si nous faisons intervenir le facteur technique, cette erreur peut atteindre 0,20 micron. Mais il faut insister sur la nécessité de mesurer différents diamètres avec cette méthode pour une même hématie, car les mesures faites sur des hématies irrégulières permettent de constater que vues sous un axe longitudinal et vues sous un angle transversal, la différence peut atteindre 0,18 micron. C'est pourquoi, il est préférable de mesurer les hématies régulières, afin d'éliminer cette erreur. Ainsi, si certaines erreurs personnelles interviennent, si des erreurs techniques tenant à l'optique utilisée, à la préparation de la lame de sang, aux méthodes préconisées jouent un rôle, l'ensemble de ces erreurs n'atteint pas 0,3 micron ; on peut l'estimer à 0,25 micron et dans cette erreur le facteur personnel intervient pour plus de 50 %, tandis que la coloration, l'étalement, le séchage de la lame ne représentent pas plus de 20 %, le reste étant dû aux défauts particuliers à chaque méthode. Les erreurs permettent de comprendre les raisons pour lesquelles les différents auteurs trouvèrent des chiffres très variables dans la détermination du diamètre moyen. Cependant, la précision des méthodes actuelles permet de donner des chiffres qui semblent concorder entre tous les auteurs.

La précision de ces méthodes est donc suffisante pour justifier leur utilité dans l'élaboration du diagnostic et même de la recherche dans les anémies. On peut admettre avec LARSEN que "des différences de moins de 0,24 micron entre deux mesures du diamètre moyen sont sans signification".

En parcourant la littérature, on constate que les valeurs indiquées par les différents auteurs pour le diamètre globulaire normal varie considérablement entre 7,00 et 8,82 microns. Cette différence n'est pas due au fait que les divers auteurs ont examiné des gens de races différentes

(RICHARDSON, WISCHNEWSKY), ni de sexes opposés (OHNO, PRICE-JONES, V.BOROS), ni d'âges différents (PRICE-JONES, HERNBERG (37)), pour expliquer les divergences. Il est habituellement constaté que la différence entre les valeurs normales des divers auteurs est due à des facteurs techniques et facteurs propres à la recherche individuelle. Dans un premier tableau (Fig. 1), on verra les valeurs normales des érythrocytes indiquées par plusieurs auteurs. Il apparaît que ces valeurs normales divisent ceux-ci en groupes distincts s'accordant sur la méthode employée ; mais même au sein de chaque groupe, il y a des variations considérables entre les valeurs individuelles des auteurs.

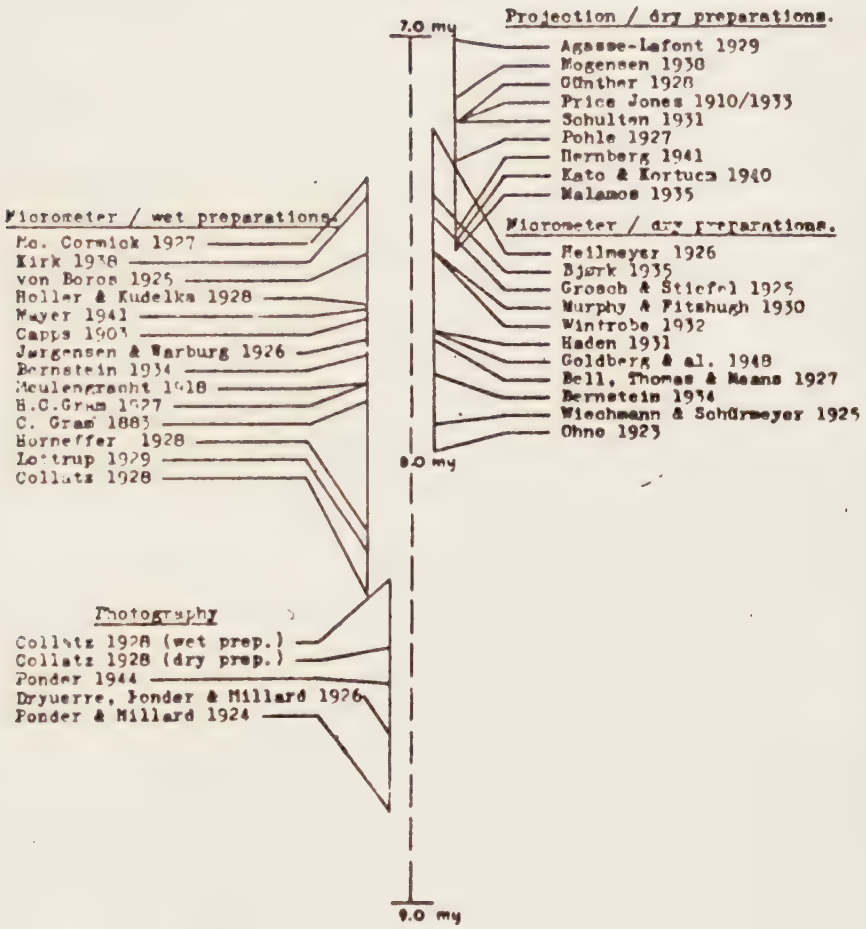


Fig. 1 - Valeurs normales du diamètre moyen érythrocytaire établi par les auteurs utilisant des méthodes différentes.

Ce tableau synoptique élaboré par LARSEN (46 -1 , p. 12) illustre bien les décalages métriques d'un groupe de techniques à l'autre.

Les mesures moyennes exposées précédemment ont certes un intérêt, car elles permettent rapidement de faire le point érythrocytométrique assez précis d'un sujet donné. Mais du fait qu'elles n'expriment qu'une valeur moyenne, elles ne répondent pas toujours aux besoins du diagnostic, de surveillance thérapeutique et d'évolution.

En effet, l'ensemble des cellules du sang ne forme pas un tout homogène ; elles sont de deux sortes : les cellules en voie de destruction et les cellules de remplacement fournies par la moelle. Il existe donc un certain degré d'anisocytose physiologique. Par les précédentes méthodes, on détermine un diamètre moyen des différentes sortes d'hématies. La concrétisation graphique de ces mesures érythrocytaires avec leurs écarts type, leurs caractéristiques mathématiques ne pouvait se faire sans établir une courbe gaussienne qui allait permettre la lecture rapide du bilan érythrocytométrique dans les cas normaux et pathologiques. La construction de la courbe de PRICE-JONES permet d'approfondir très utilement ce problème. Les variations obéissent à la "loi des écarts" représentée précisément par la courbe en cloche de Gauss. C'est sur cette loi que PRICE-JONES s'est appuyé pour construire une courbe de fréquence du diamètre des hématies.

Cette méthode d'étude permet d'apprécier d'une façon précise le degré d'anisocytose ; celui-ci est indiqué par la forme de la courbe et la largeur de sa base. Parallèlement à la construction de la courbe, on peut calculer des coefficients permettant une interprétation facile : ce sont l'écart standard σ et le coefficient d'anisocytose (A). Ce dernier indique le degré d'anisocytose et est calculé d'après l'écart standard.

Mieux que toute explication, l'établissement d'une courbe de PRICE-JONES chez un sujet normal en rendra la compréhension plus nette.

PRICE-JONES étudia pour l'élaboration de ses courbes le nombre de cellules de 0,25 microns en 0,25 microns, mais en pratique, une précision d'un $\frac{1}{2}$ micron s'avérait suffisante. On obtient une courbe de Gauss en général parfaitement régulière, dont le sommet représente le diamètre moyen des érythrocytes d'un sujet. Chez l'homme normal, l'immense majorité des globules a un diamètre de 7,2 microns ou très voisin. Les globules d'un diamètre nettement plus grand (8 microns) ou plus petit (6 microns) sont en nombre très restreint, ce qui donne à la courbe l'aspect d'un clocher à base très étroite. Chez des sujets normaux, on constate en outre que si la forme de la courbe ne change pas, son axe peut se déplacer légèrement à droite ou à gauche de la position moyenne. Le diamètre moyen des hématies chez 100 individus en bonne santé peut varier d'après PRICE-JONES de 6,68 microns à 7,71 microns. Au delà et en deçà de ces chiffres, on peut considérer que le sujet a des globules anormaux. PRICE-JONES ne construit donc pas une seule courbe standard à sommet sur 7,2 microns, mais 2 courbes : l'une A, dont le sommet correspond à 6,68 microns et l'autre B à 7,71 microns.

Toute courbe qui se trouvera à gauche de A ou à droite de B sera considérée comme pathologique.

Cette courbe est formée d'une seule population que l'on doit considérer comme des normocytes. Le normocyte est un élément dont les valeurs moyennes définissent la normocytose (CREYSSEL (19)).

Vm	:	84 microns cubes	$\pm$ 5 microns cubes
Dm	:	7,25 microns	$\pm$ 0,15 microns
Em	:	2,20 microns	$\pm$ 0,10 microns
Sm	:	127 microns carrés	$\pm$ 10 microns carrés.

Cette normocytose n'est pas seulement définie par des valeurs moyennes, mais surtout par la courbe de PRICE-JONES.

Un fait frappe dès lors dans cette courbe. C'est le degré assez important d'anisocytose physiologique. En effet, la déviation standard est voisine de 0,47 $\pm$ 0,4 et le coefficient d'anisocytose est égal à 7 % $\pm$ 1. Cette anisocytose n'est pas occasionnée par l'intervention d'erreurs, x^2 étant dans ces cas sans grande augmentation. Il s'agit d'un état physiologique du sang. C'est l'état d'équilibre entre des cellules en voie de destruction et des cellules de remplacement qui caractérise l'ensemble des hématies. C'est cet état de perpétuel remaniement qui détermine cette anisocytose physiologique. Ce fait sera d'une grande importance pour l'interprétation des données pathologiques.

Ainsi, la courbe statistique de PRICE-JONES, épousant la forme des courbes de Gauss, sera formée d'une branche droite orientée vers la macrocytose, une branche gauche orientée vers la microcytose, tandis que le sommet de la courbe sera voisin du diamètre moyen des hématies.

Toute altération de l'érythropoïèse entraînera soit une atteinte qualitative de cette courbe, avec apparition d'une population pathologique, soit une simple hypertrophie d'une branche de la courbe sans apparition d'une seconde population. Parfois, cette altération qualitative n'existe pas, il s'agit alors d'affections atteignant quantitativement l'érythropoïèse et non qualitativement.

Les nombreux auteurs qui ont étudié les hématies chez des individus normaux ont établi que leurs dimensions sont approximativement les mêmes chez toutes les personnes.

Pour leur diamètre, PRICE-JONES donne les chiffres suivants :

44 %	entre	7,5	et	7,9 microns
29 %	"	7	"	7,4 microns
10 %	"	6,5	"	6,9 microns
14 %	"	8	"	8,4 microns
3 %	"	8,5	"	8,9 microns.

La moyenne d'après cet auteur est de 7,48 microns.

WHITBY (89) suivi par la plupart des auteurs, adopte le chiffre de 7,2.

ALBRITTON (1), dans son étude sur les valeurs standards du sang, trouve les valeurs suivantes pour les érythrocytes humains :

- diamètre globulaire sec :

  ♂♀ 7,5 - étalement de 7,2 - 7,8 microns

- diamètre globulaire en milieu humide (plasma) :

  ♂♀ 8,4 - étalement de 7,4 - 9,4 microns.

Il est intéressant de mentionner à titre de comparaison, les chiffres de diamètres sur frottis sec trouvés chez des mammifères, par

le même auteur :

- le plus petit diamètre chez le chevrotain (tragulus javanicus) : 2,1 microns
- les plus grands diamètres chez l'éléphant africain (loxodonta africana) : 9,2 microns
- et chez l'éléphant des Indes (elephas maximus) 9,2 microns
- et chez l'Anteater géant (Myrmecophaga tridactyla) (tamanoir ou grand fourmilier) : 9,2 microns.

BOCK (9) en utilisant la méthode de mensuration halométrique trouve pour le Dm érythrocytaire un chiffre supérieur à 7,5 microns.

BENHAMOU et NOUCHI (5), travaillent, eux, avec la chambre claire de MALASSEZ et indiquent pour un sujet normal un Dm de 6,90 microns à 7,10 microns.

Tandis que CREYSSEL et coll. (19) ont retenu le chiffre de 7,25 microns déjà cité parmi les constantes biométriques du normocyte, DAVIDSON et Mc CRIE (22) constatent que 95 % des cellules ont un diamètre entre 7 et 9 microns, le Dm approximatif étant de 7,7 microns.

FREERKSEN (29) indique pour le diamètre maximal chez l'homme, 7,7 microns.

En parcourant la littérature des mensurations globulaires, la question des hématies de forme élliptoïde se pose et fait intervenir $\frac{\text{le grand D + petit d}}{2}$. Ce procédé étudié par LIEBERHERR (50) est inexact lorsque l'on compare les valeurs des surfaces en faisant intervenir la formule pour ellipse

$$\left(\frac{g\,D + p\,D}{4} \cdot \pi\right).$$

et celle pour cercle ; par exemple :

1) D max. 8 microns, D min. 6 microns : Dm 7 microns
Surface d'après la formule du cercle : 38,5 microns^2
Surface d'après la formule elliptique : 37,5 microns^2

2) D max. 11,5 microns, D min. 5,5 microns :Dm 8,5 microns
Surface d'après la formule du cercle : 56,5 microns^2
" " " elliptique : 49,5 microns^2

L'erreur est petite quand la différence des diamètres est petite.

SARAGEA (76) s'attachant plus particulièrement à l'étude des diamètres de l'homme aux différents âges de la vie trouve un chiffre moyen de 7,55 microns à l'âge de 30 à 50 ans. Chez le nouveau-né et pendant les premiers mois de la vie, il y a entre les globules une grande irrégularité de diamètre : on observe une sorte d'anisocytose physiologique rappelant celle des anémies graves ; puis le diamètre se régularise.

LARSEN en 1948 admet que la valeur du Dm = 7,8 microns, avec extrêmes de 8,3 et 7,2.

Pour les auteurs américains, les diamètres moyens des érythrocytes humains frais et fixés par dessication et coloration se trouvent être de 8,8 et 7,6 - 7,0 microns, chez PONDER et MILLAR (69) et de 8,5 et 7,6 - 7,1 microns chez PONDER et SASLOW (70), rejoints en cela par CUNNIGHAM et TOMPKINS (82), qui retiennent comme valeur de diamètre moyen 8,9 microns.

WINTROBE (91), enfin, termine la série en indiquant des diamètres de 7,2 à 7,9 microns pour des frottis secs colorés. Des moyennes de

l'ordre de 6,9 et 6,5 microns ont été trouvées chez des sujets normaux. Sur certaines préparations, on a pu déceler des érythrocytes de 4,75 microns et d'autres de 9,5 microns ; mais en général, la plus grande variation dans les diamètres érythrocytaires atteint 3,5 microns.

Les diamètres mesurés sur préparation humide sont supérieurs de 0,8 à 1 micron aux diamètres secs - mentionnés précédemment.

WINTROBE évoque les variations physiologiques : il y aurait des différences entre sexes, concernant le diamètre moyen et le volume globulaire moyen. Les hématies provenant de sujets féminins étant légèrement plus grandes(de 0,14 micron dans le diamètre et 2 à 4 dans le volume) ; en tout cas, la différence est trop minime pour avoir une signification clinique. D'autres facteurs à incidence sur le diamètre ont été évoqués tels que variations diurnes, pression barométrique basse.

Même avec les plus grands soins les chercheurs admettent une erreur de 0,2 micron.

De l'avis de BESSIS (7 -1), le diamètre est remarquablement constant chez l'homme normal. On peut trouver chez le même individu des érythrocytes qui mesurent 4,5 microns et 9,5 microns, mais la presque totalité des cellules se trouve entre 6,7 et 7,7 microns, avec grandeur maxima de 7,2 microns. Il affirme que le diamètre des érythrocytes sur frottis secs est presque identique à celui que l'on peut mesurer à l'état frais. Ceci s'expliquerait par la disposition de l'hémoglobine en lamelles orientées qui, lors de la dessication se tasseraient les unes contre les autres dans un plan vertical. Si un liquide banal était contenu dans le globule rouge, celui-ci s'étalerait lors de la confection du frottis et le diamètre cellulaire serait plus grand qu'à l'état frais (comme le font les leucocytes).

Il existerait une certaine variation diurne, l'augmentation du diamètre pendant le jour pouvant atteindre 0,6 micron.

On trouvera une étude critique des méthodes de mesure du diamètre globulaire dans les ouvrages de PONDER (67) (1948) et DACIE (1950).

Après une description des méthodes qui sont à notre disposition pour déterminer la taille des globules, la mesure directe des érythrocytes à l'aide d'un micromètre est discutée. On montre que cette méthode comporte beaucoup de sources d'erreurs, de nature inconnue en partie. La littérature traitant de la variation de taille des globules évoque surtout la macrocytose dans les maladies du foie et laisse entrevoir que le diamètre est plus souvent augmenté que le volume des globules. Les théories proposées pour expliquer ce phénomène sont mentionnées. Elles se scindent en deux groupes, les théories de cause périphérique et les théories d'une érythropoïèse modifiée.

Quels diagnostics et pronostics peuvent découler de la présence de macrocytose par exemple et quelles méthodes peuvent être employées si le phénomène est utilisable en clinique ?

On peut répondre à cette question en suivant un certain nombre de malades porteurs d'affections hépatiques par des mesures fréquentes de la taille de leurs globules pendant toute la durée de la maladie. Pour résoudre plusieurs de ces problèmes, il ne suffit pas de déterminer la taille moyenne des globules. Il faut déterminer comment les diamètres cellulaires sont distribués autour de la moyenne.

Avant d'utiliser ces méthodes afin de répondre aux questions précédentes, les causes d'erreurs doivent être déterminées, de façon à pouvoir les éliminer dans la mesure du possible.

Dans un premier temps, on fera une analyse détaillée de la technique de mensuration utilisée sur des sangs normaux afin de déterminer sa relativité.

Puis, dans un deuxième temps - en partant d'une technique satisfaisante, on utilisera un matériel clinique susceptible de répondre à nos questions et d'étayer nos observations.

Ces problèmes sont de nature statisticale et on emploie, pour cette raison, des méthodes modernes de statistiques. Ceci suppose que l'on opère avec des facteurs qui peuvent être mesurés ou exprimés en graphiques.

Construction de la courbe de Price-Jones

La mensuration des hématies faite pour déterminer le diamètre moyen est utilisée pour cette construction. Nous ne reviendrons pas sur les techniques utiles envisagées précédemment. Sur un papier millimétré, on porte en abscisse les différents diamètres, en ordonnée le nombre d'hématies correspondant à ces diamètres. Une telle construction nécessite la mensuration d'un nombre d'hématies oscillant entre 100 et 250, ce chiffre variant en fonction des techniques et de leurs auteurs.

Le tableau suivant illustre la manière de relever les diamètres érythrocytaires, et va nous permettre de construire une courbe de fréquence, en ramenant le pourcentage des cellules à 100.

Variance : diamètre en microns	Quantité de cellules mesurées	Fréquence
6.00	𝍸 |	3
6.25	||	2
6.50	𝍸 𝍸	10
6.75	𝍸 𝍸 ||	12
7.00	𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 ||	32
7.25	𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 ||	43
7.50	𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 ||	43
7.75	𝍸 𝍸 𝍸 𝍸 ||	22
8.00	𝍸 𝍸 𝍸 ||	19
8.25	𝍸 𝍸	10
8.50	||	3
8.75	|	1
	Total :	200

Distribution des fréquences : tous les érythrocytes qui à un moment donné se trouvent en circulation dans l'organisme constituent "une population". Il disparaît constamment des cellules individuelles qui meurent ; d'autres cellules nouvelles sont libérées constamment par les centres hémopoïétiques. Les cellules ne sont pas toutes de taille égale. Un certain degré d'anisocytose est physiologique. Si l'on mesure les diamètres d'un grand nombre de globules, les valeurs trouvées sont groupées d'après la taille. Chaque groupe est appelé une variance (6,00, 6,02, par exemple). Le nombre de diamètres globulaires de chaque variance se nomme une fréquence (3, 2, 10, par ex.). La somme de toutes les fréquences est désignée par N. La moyenne arithmétique de toutes les fréquences est le diamètre moyen des échantillons globulaires, désigné par D.M. . La

distribution autour de cette moyenne est mesurée par la variance qui est la moyenne des carrés de déviation des fréquences de la moyenne. La racine carrée positive de la variance est appelée "déviation standard σ ", qui est une autre mesure pour la distribution des diamètres autour de la moyenne. Cette distribution des fréquences peut être représentée en graphique : en reportant les valeurs variables sur l'axe X et les fréquences sur l'axe Y, on obtient un polygone de fréquence qui donne un dessin graphique de la distribution des diamètres globulaires. La valeur réelle du D.M. d'une population et la variance sont inconnues. Toutes les mesures peuvent donner des valeurs approximatives seulement, déviant plus ou moins des valeurs réelles, ceci résultant des échantillons pris au hasard et des erreurs techniques. Les valeurs obtenues par ces mesures sont nommées "caractéristiques", les valeurs correspondantes vraies - et inconnues - se nomment paramètres. Même si la vraie valeur d'un paramètre ne peut être déterminée par les mesures actuelles, l'on peut, en possèdant un nombre de caractéristiques, déterminer un champ, dans lequel le paramètre doit se situer. Plus de caractéristiques l'on a, plus la détermination de ce champ sera exacte.

Courbe de fréquence, sa genèse

Pour mieux comprendre un diagramme de fréquence, il faut admettre qu'il a la signification d'un diagramme des probabilités et supposer que le nombre de cas (ou classes) que comporte la distribution devienne très élevé. Le nombre de rectangles de l'histogramme va devenir très grand. En même temps, que le nombre de rectangles augmente, chacun d'eux se rétrécit et le bord supérieur de l'histogramme (et par suite le polygone des fréquences correspondant, qui a la même signification) vont dessiner des dentelures de plus en plus étroites.

A la limite, le polygone des fréquences devient une courbe continue dite courbe de fréquence.

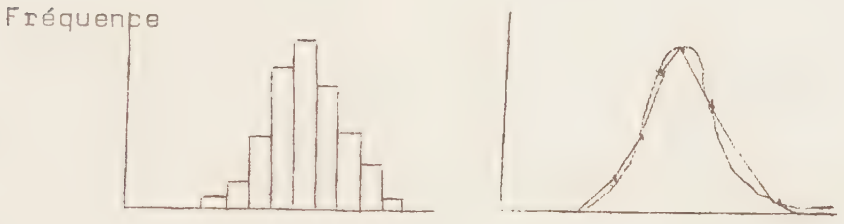


Fig. 2 - Polygone et histogramme de fréquence, d'après GELLER (31).

Cette courbe de fréquence dont la genèse est ainsi tout à fait superposable à celle d'une courbe de densité de probabilité, a, on le devine, la même signification que cette dernière.

On peut la considérer comme la représentation géométrique d'une loi idéale de distribution du caractère étudié. On retrouve souvent alors des courbes qui se rapprochent des courbes théoriques du calcul des probabilités, et en particulier, la courbe en cloche de Gauss (fig. 2).

On peut interpréter ces données en considérant que la série statistique étudiée, caractérisée par son diagramme des fréquences, est un échantillon limité d'une population d'effectif très grand, théoriquement infini, dont la courbe des fréquences exprime la loi véritable de distribution, étant entendu que le terme de "population" s'applique en statistique, à tout ensemble de valeurs ou de nombres. Nous aurons l'occasion de recourir à cette notion importante pour des problèmes d'interprétation statistique.

Morphologie de la courbe de Gauss

La courbe de Gauss dont nous connaissons déjà l'allure générale "en cloche", présente deux points d'inflexions systématiques pour $x = \pm 1$.

Dans tous les cas, la courbe décroît de part et d'autre du maximum d'abord lentement, puis plus rapidement, jusqu'aux points d'inflexion, puis plus lentement au delà de ces points, jusqu'à devenir asymptote à l'axe des abscisses. Il est clair que la forme de la courbe sera déterminée par la valeur du σ : plus le σ est faible, plus les points d'inflexion seront près de l'axe et plus la courbe sera resserrée autour de la moyenne, et inversement. Donc, plus le σ sera petit, plus le sommet de la courbe sera élevé.

Au total, par conséquent, plus le est faible, plus la courbe est étroite et haute, plus le σ est grand, plus la courbe est basse et étalée.

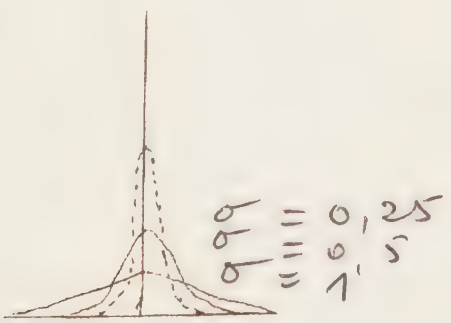


Fig. 3 - Morphologie de la courbe de Gauss suivant différentes valeurs du σ (d'après LAMOTTE) (31).

On voit l'importance considérable du σ qui commande la morphologie de la courbe de Gauss.

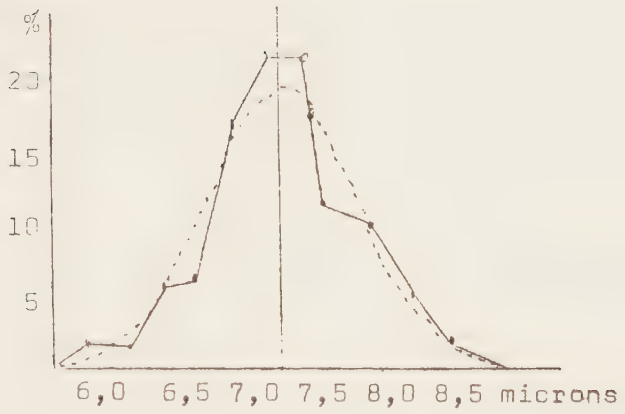


Fig. 4 - ——— courbe de fréquence observée
---- courbe correspondante normale.

Analyse de cette courbe

Comme toutes les courbes de statistiques qui traduisent la loi générale des écarts, la courbe de Price-Jones normale est en forme de cloche, c'est le type de la courbe de Gauss.

Cette courbe peut se rapporter à un type unique dont les propriétés sont bien établies et auquel on peut dans tous les cas se référer. Cette courbe est ainsi définie par trois paramètres particulièrement propres à la caractériser.

N = la fréquence totale des distributions, égale à la surface comprise entre la courbe et l'axe des X. Quand N varie cette surface varie.

M = moyenne arithmétique de la distribution des fréquences, c'est-à-dire le mode si la courbe est symétrique, le mode étant la valeur de la variable pour laquelle la fréquence est maximum. La classe modale pour une courbe définie est celle qui correspond à la fréquence la plus élevée. Si M varie, la courbe ne se modifie pas, mais subit une translation parallèlement à l'axe des X.

σ = écart-type de la distribution des fréquences.

Des tables numériques spéciales permettent en connaissant certaines valeurs, de déterminer les paramètres des courbes.

I - Nous envisagerons en premier l'analyse d'une courbe normale :

a) X2 : la comparaison d'une courbe déterminée par l'une des méthodes précédemment étudiées à la courbe idéale correspondante a une expression mathématique qui permet de définir la courbe obtenue et de juger de la valeur des techniques utilisées. La valeur de X2 peut être exprimée par :

$$X2 = \frac{(\text{Fréquences attendues} - \text{fréquences observées})2}{\text{Fréquences attendues}}$$

Selon les recherches de PRICE-JONES (71 -3) et GUNTHER (35), les diamètres globulaires de sujets normaux sont répartis autour de la moyenne concordant avec la courbe normale. Cette distribution normale peut être calculée si le Dm et σ sont connus. Mais la Fig. 4 montre que la courbe de fréquence observée et la courbe normale calculée ne concordent pas. Ceci est dû aux erreurs d'échantillonnage au hasard. On peut, par conséquent, calculer pour chaque catégorie variante la différence entre le nombre des fréquences observées et le nombre de fréquences attendues. Certaines de ces différences seront positives, d'autres seront négatives. Depuis que la somme des fréquences est la même dans les deux courbes, la somme de ces différences sera égale à zéro. Si néanmoins, toutes les différences sont reportées au carré, nous obtiendrons uniquement des figures positives, et plus grandes seront les simples différences, plus grande sera la somme de ces figures.

L'on peut supposer que la différence qui est due aux causes du

hasard serait plus grande dans des variances avec beaucoup de fréquences que dans celles à faibles fréquences. C'est pourquoi, nous divisons la différence dans chaque variance par le nombre de fréquences attendues dans la variance. La somme de cette figure est appelée X2.
X2 a toujours une valeur positive.

b) Variance : la variance est la distribution de la moyenne airthmétique des carrés des écarts et l'écart-type de cette distribution est la racine carrée de cette variance. C'est la meilleure mesure de la distribution de fréquences des courbes en cloche.

c) Déviation standard et coefficient d'anisocytose : en pratique habituelle, ce sont deux coefficients qui interviennent. Ils sont mathématiquement définis par les formules suivantes :

$$\sigma = \frac{(nx \times E)\ 0{,}5}{N} \qquad A = \frac{\sigma}{Dm}\ 100$$

le coefficient 0,5 représentant dans cet exemple l'intervalle de classe de notre étude. Il peut varier selon les appareils et les méthodes utilisées. Ces deux coefficients permettent de définir assez exactement la courbe de Price-Jones.

II - Dans un deuxième temps, il nous a paru utile d'entreprendre l'analyse d'une courbe pathologique, avant de passer de l'étude des cas normaux à celle des cas dits pathologiques.

La courbe normale est assez précise pour que les différents coefficients précédents la définissent. Dans les courbes pathologiques, les chiffres moyens tendent à s'écarter de l'état exact de la distribution des hématies. Nous serons amenée à poser la question suivante : la courbe pathologique exprime-t-elle un état pathologique ou n'est-elle que la

manifestation d'une œreur ? Nous affirmons que si cette courbe n'était que la manifestation d'erreurs, la comparaison avec une courbe théorique du même type revêtirait une très forte augmentation de X2. En fait, cette comparaison permet de constater que cette valeur reste très voisine des chiffres normaux. "Les courbes pathologiques sont donc bien l'expression réelle du sang malade" (LARSEN) (46 -1).
Consécutivement à l'analyse d'une courbe pathologique, nous envisagerons l'analyse des courbes hétérogènes : PRICE-JONES pensait que dans l'anémie de Biermer, on trouvait trois populations globulaires. MOGENSEN (59) et TOTTERMANN montrent que la courbe de Price-Jones dans cette anémie peut être dissociée en trois composantes. LARSEN vérifie ce fait et constate que l'anémie des hépatiques a une courbe de Price-Jones formée de deux populations globulaires. De plus, les distributions bimodales ou plurimodales peuvent être considérées comme la superposition de deux ou plusieurs distributions qui porterait sur une, deux ou plusieurs catégories de la population hétérogène.

Dans la biocytométrie, l'analyse des courbes hétérogènes a un intérêt certain puisqu'elle permet de définir très exactement les différentes composantes des courbes de distribution. Les méthodes de détermination de ces composantes sont assez longues et compliquées ; il n'est pas dans notre intention de les exposer en détail, mais de donner un aperçu de celle que nous utilisons.

MOGENSEN montre que les diamètres des hématies d'un sujet normal sont distribués normalement. Si l'on connaît le diamètre moyen, la déviation standard, la population correspondante est entièrement définie par l'équation de la courbe normale.

$$f(x - m) = \frac{N}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(x-m)^2}{2\sigma^2}} \qquad (1)$$

$(x - m)$: différences de classes caractérisées par leur distance de la moyenne.

$f(x - m)$: le nombre des fréquences pour chaque classe.

N : le nombre total des fréquences

σ : déviation standard ; e : la base du logarithme naturel.

l'équation (1) peut s'écrire :

$$\log f(x - m) = - \frac{\log e}{2\sigma^2} (x - m)^2 + \log \frac{N}{\sigma \sqrt{2\pi}} \qquad (1').$$

elle représente alors l'équation de la droite :

$y = \log (x - m) + K$ ou $y = - ax + k$

Cette droite dont $(x - m)^2$ est porté en abscisse et $\log (x - m)$ en ordonnée a une pente égale à $- \frac{\log e}{2\sigma^2}$

Appelons - b - le point des ordonnées qui coupe cette droite.

Appelons - a - le point des abscisses qui coupe cette droite.

La pente de cette droite devient $- \frac{a}{b} = - \frac{\log e}{2\sigma^2}$ (2)

$$\text{ou encore } \sigma = \sqrt{\frac{1}{2} \log e \cdot \frac{a}{b}} \qquad (3)$$

Mais si dans l'équation (1) on admet $x = m$, on aura :

$$f = \frac{N}{\sigma\sqrt{2\pi}} \quad \text{donc} : N = f(o) \cdot \sigma \sqrt{2\pi}$$

$\log f(o) = b$ et par conséquent

$f(o) =$ antilog. b.

Nos intervalles de classe sont de 0,20 my au lieu de 1 my, il faut multiplier la partie droite de l'équation par 5 pour obtenir l'équation finale :

$$N = 5\sqrt{2\pi} \cdot \sigma \text{ antilog. } b.$$

my = 1/1000 millimètre.

Grâce aux formules (3) et (4), il est alors possible de calculer les différentes valeurs de cet ensemble de composantes.

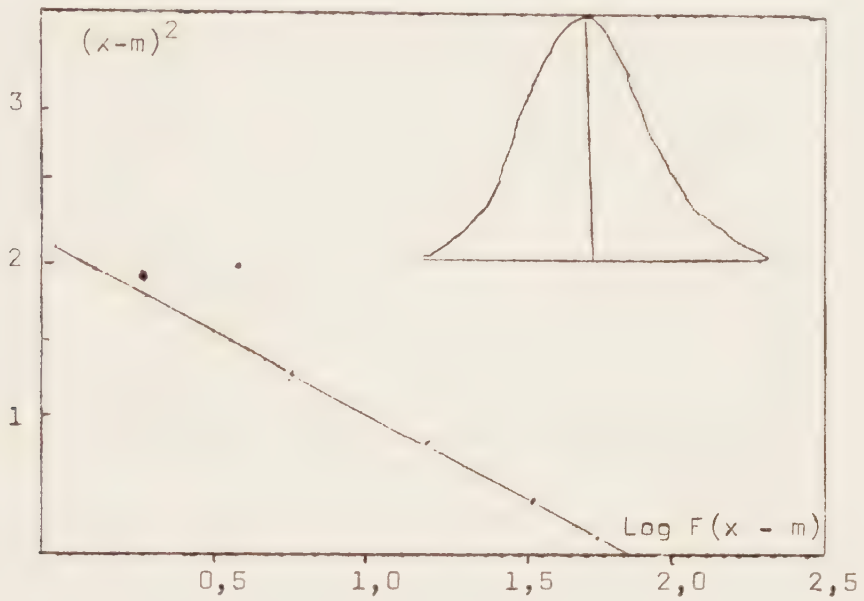
Si dans les cas où la courbe est homogène, il est facile de calculer ces valeurs, lorsque la courbe est hétérogène, il convient de déterminer dans un premier temps le diamètre moyen du composant moyen (m^o) avant de déterminer les diamètres moyens des composants extrêmes (md et mg).

Plusieurs méthodes ont été proposées pour la détermination de m^o ; celle de LARSEN nous a paru satisfaisante, nous en rappelons le principe. Pour calculer m^o on construit la courbe de Price-Jones sur papier millimétré transparent, le point modal est noté et la courbe est transposée sur une échelle de courbe préalablement préparée. Le point modal de la courbe théorique correspondante est porté sur la courbe observée et m^o est ainsi déterminé avec une erreur ne dépassant pas 0,06 (LARSEN) (45).

Pratiquement, cette analyse totale demande un effort mathématique considérable ; on peut le réduire en utilisant la méthode générale suivante :

- courbes de référence et tables de calcul permettant d'obtenir rapidement les valeurs de $(x - m^o)^2$ selon les variations de m^o et de Dm sont utilisées.
- on construit la droite représentant l'équation (1') ce qui permet de connaître a et b, qui, dans l'équation (3) donnent la valeur du coefficient de déviation et dans l'équation (4) la valeur de N^o. On multiplie alors les fréquences de la courbe correspondant à une déviation standard S^o par $N^o/100$ afin de calculer les fréquences dans chaque classe de cette courbe N^o En déduisant de N la valeur de N^o, et en agissant ainsi successivement, on déterminera les paramètres des différents composants.

Ces calculs peuvent sembler difficiles, mais ils rendent de grands services dans l'analyse complète des courbes hétérogènes.



Analyse d'une courbe de fréquence élaborée d'après la méthode de MOGENSEN.

Fig. 5 - Courbe normale.

Les valeurs de $x - m)^2$ et les valeurs correspondantes pour log f $(x - m)$ sont reportées sur le diagramme et se placent comme prévu, sur une ligne droite. La valeur pour log. $f(x - m) = 0,3$ se situe en dehors de la ligne parce que les fréquences dans cette classe ont été arrondies au chiffre supérieur de 1,6 à 2.

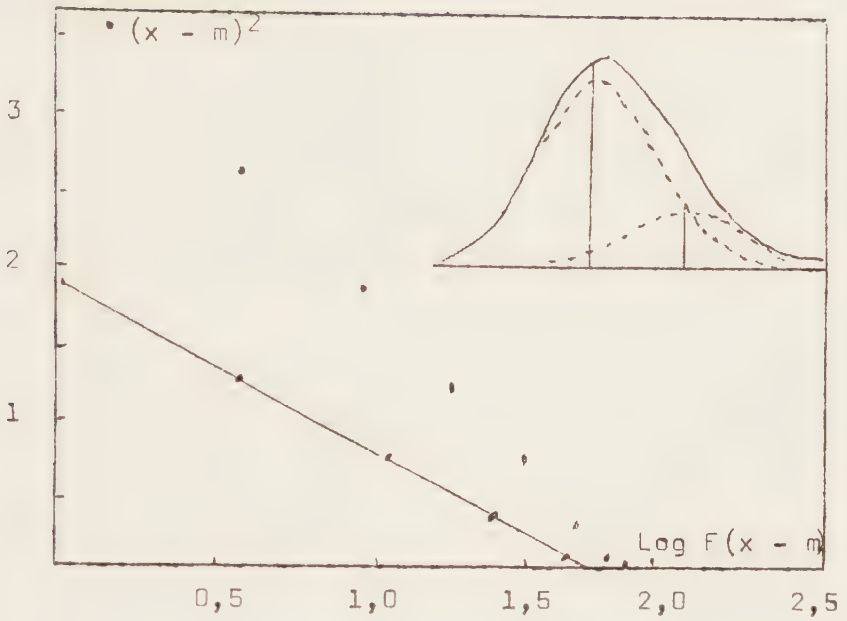


Fig. 6 - Courbe pathologique

Analyse d'une courbe de fréquence, d'après la méthode de MOGENSEN : courbe hétérogène à 2 composantes.

De la construction de ces courbes normales et hétérogènes, se dégage une notion très importante. Dans l'ensemble des bilans érythrocytométriques, un examen a une valeur de premier plan : la courbe de Price-Jones, laquelle éliminant l'intervention des populations contraires qui faussent les calculs moyens, apparaît comme une image très nette de l'état actuel du sang périphérique et pour cette raison doit prendre une place capitale dans le bilan hématologique moderne.

L'étude des différentes techniques de mensuration du diamètre érythrocytaire et de leur modalité d'application nous apprend que c'est sur frottis sec de sang que s'effectue le plus souvent la mesure du diamètre moyen des hématies et la détermination de la courbe de Price-Jones.

Le diamètre de l'hématie en milieu liquide est bien plus rarement étudié, car sa mesure se heurte à de grandes difficultés. Le sang est dilué avec une des solutions anticoagulantes ou non qui sont utilisées pour les numérations globulaires. Mais, avec ces diverses solutions, les hématies se déforment très rapidement, en quelques minutes, parfois presque instantanément. Elles deviennent crénelées ou épineuses. Leur diamètre se modifie dans un laps de temps plus bref que celui nécessité par la mesure du diamètre, à la chambre claire, d'un nombre suffisant d'hématies ou même que celui nécessité par l'utilisation des appareils servant à la détermination du diamètre moyen. Les résultats obtenus ainsi sont erronés.

Nous avons étudié les hématies en recueillant entre lame et lamelle une goutte de sang frais, en l'écrasant sous une pression très faible, puis en lutant la lamelle. Habituellement, dans ces conditions les hématies ne se déforment pas, ne deviennent pas épineuses, gardent leur forme réelle. Une pression trop forte sur la lamelle provoque au contraire des altérations et des fragmentations globulaires.

Dans la grande majorité des cas, les hématies se groupent en piles, en rouleaux et surtout en amas parfois énormes, englobant presque toutes les hématies. Les hématies restées libres entre les amas ne se déforment pas rapidement. La détermination de leur diamètre est facile.

Pour nous, le résultat ainsi obtenu n'est le plus souvent pas valable. Car rien ne permet d'affirmer que les amas se constituent avec une quantité proportionnelle des hématies de différentes tailles. Le résultat n'est valable que lorsque les amas sont très petits et que la presque totalité des hématies restent libres.

La formation des amas n'est guère modifiée si l'on tient compte de la température, si l'on évite les mouvements de la lamelle sur la lame, si l'on utilise du matériel siliconé ou des lames et lamelles en plastique , du verre de diverses qualités.

Nous avons dilué les sangs étudiés avec de l'eau d'Uriage pratiquement isotonique au sérum sanguin, dans la proportion 1/1. Puis, une goutte du mélange est déposée entre lame et lamelle. La préparation est lutée.

La présence d'eau d'Uriage empêche la formation de piles, de rouleaux ou d'amas. Les hématies sont bien séparées les unes des autres et gardent pendant un temps assez long (1 ou 2 heures) une forme normale. L'apparition, pendant ce délai, d'hématies crénelées ou épineuses est une éventualité rare.

Ainsi, dispose-t-on d'un délai suffisant pour déterminer le diamètre moyen. Il est même possible de faire le prélèvement du sang en dehors du laboratoire et de transporter les préparations (WAITZ (85)).

La réalisation technique de la mensuration du diamètre érythrocytaire s'effectue d'une manière rigoureusement établie. Nous avons utilisé pour ces travaux :

- un objectif à immersion 90
- un oculaire Zeiss (grossissement 15)
- un micromètre objectif gradué Zeiss (division = 10 microns)

- une chambre claire de Malassez (Zeiss Winkel).

le tout étant monté sur un microscope BBT KRAUSS.

Nous avons étalonné le microscope pour avoir le grossissement 2000, ce qui permet des mesures plus faciles. Pour cela, après avoir obtenu sur une feuille de papier blanc disposée à la droite de l'opérateur l'image de la graduation du micromètre, on tire plus ou moins le tube coulissant du microscope jusqu'à ce qu'on obtienne une image de la graduation telle que chaque division mesure très exactement 1 cm, ce qui donne 10 microns = 20 mm ou bien 1 micron : 2 mm. Ceci nous a permis de construire une échelle graphique dont voici le modèle fig. VII, utilisée directement lors de la mensuration des diamètres.

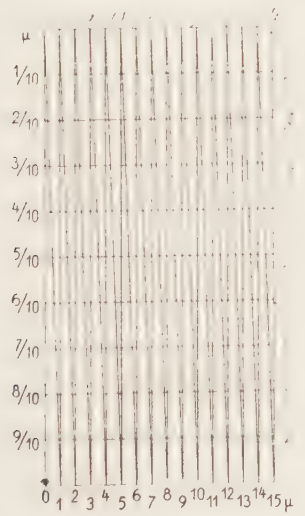


Fig. VII

Une lame de sang colorée est alors disposée à la place du micromètre objectif, l'étalement étudié et dessiné après mise au point à l'immersion. Avec la pointe très fine d'un crayon on trace sur la feuille de papier le pourtour des hématies qu'on aura soin de choisir bien régulières et en différents points de l'étalement.

On pourra ainsi dessiner un nombre déterminé d'hématies qu'on mesurera ensuite à l'aide d'un compas à pointes sèches. La mesure se fait dans les deux sens perpendiculaires de l'hématie, ceci afin de tenir compte des variations de taille et de forme que peut subir une hématie selon qu'elle est plus ou moins aplatie ou sphérique par exemple : les termes de macrocytose ou de microcytose dont la définition est basée sur le diamètre moyen, et qui désignent parfois respectivement des globules rouges larges, mais très minces ou des globules rouges étroits mais très épais, illustrent bien le problème. Les auteurs italiens FERRATA et STORTI (25) nuancent les corrélations de taille à forme, et distinguent la microplanie de la microcytose vraie et la macroplanie de la macrocytose vraie.

On reporte sur l'échelle graphique(fig. VII) les pointes du compas - à écart fixé par la mesure érythrocytaire effectuée, et bloqué - et on obtient ainsi par lecture directe les dimensions en microns et dixième de micron. La moyenne des deux chiffres nous indique le diamètre moyen d'une hématie et la moyenne de ces mesures donnera le diamètre moyen recherché sur une préparation donnée (frottis de sang ou suspension globulaire fraîche).

L'oculaire, l'objectif et la longueur du tube microscopique doivent rester les mêmes après cette standardisation. On mesure en moyenne les diamètres de 100 hématies sur un mince étalement de sang réparti de façon uniforme et coloré au May-Giemsa-Grunewald ou sur une préparation en

chambre humide. Toute modification de forme des hématies (aspect crénelé ou globuleux par exemple) ou de comportement (groupement en amas, en piles, etc.) a été soigneusement notée en début et pendant l'étude d'une préparation donnée. Nous en tiendrons compte dans l'interprétation des faits cliniques et hématologiques.

Reprenant la définition de forme des érythrocytes humains, à savoir de disques biconcaves, nous savons aussi que la forme des globules rouges se modifie facilement en rapport avec le milieu dans lequel ils se trouvent. C'est pourquoi nous lui accorderons un intérêt particulier. En eau salée physiologique les hématies gardent leur forme discoïde ; mais en certaines circonstances, ils deviennent sphériques, même dans cette solution isotonique. Les érythrocytes mis en suspension dans des solutions salées présentent une forme différente suivant la concentration du milieu, ils prennent ainsi la forme d'une sphère parfois crénelée pour une "concentration oligolytique" ainsi nommée par NAKAMURA et KURODA (61), qui est trois à quatre fois plus forte que la concentration physiologique du NaCl, tandis qu'ils deviennent discoïdes aux concentrations hypo-oligolytiques" et ont un aspect foliacé à une "concentration hyper-oligolytique".

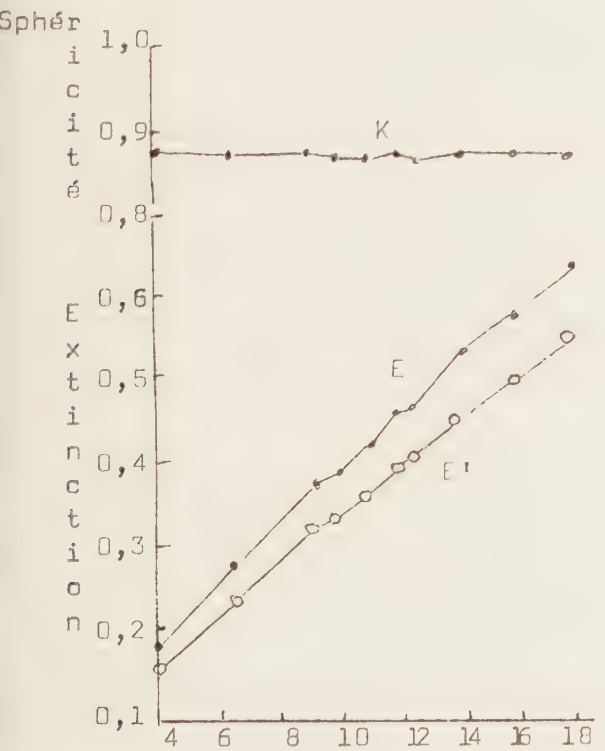


Fig. 8 - Dimensions des erythrocytes en suspension (mm).

Il s'établit une relation entre la sphéricité et la forme des érythrocytes. Ces modifications de forme et donc de diamètre ont été photographiées selon la méthode de microphotographie stéréoscopique de MIYAKE (43) en même temps qu'était mesurée la sphéricité de ces érythrocytes de forme modifiée. On voit sur la photo 1 et les figures 8 et 9 qu'avec l'accroissement de concentration de la solution saline, la forme discoïde biconcave des érythrocytes se rapproche de celle d'une sphère crénelée et que pour une concentration de 0,5 M (concentration oligolytique) toutes ces cellules sont devenues des sphères crénelées ; puis pour des concentrations supérieures de Na Cl elles s'amincissent à nouveau, prenant la forme d'une feuille irrégulière.

L'école japonaise menée par KURODA (43) a mis à profit, pour l'élaboration de sa méthode de mesure, une particularité optique qualifiée de "transparence de mouvement" basée sur le fait que la lumière traverse mieux une suspension de globules rouges animée d'un mouvement d'écoulement qu'une suspension immobile. Cette transparence de mouvement étant étroitement liée à la forme des globules rouges, elle ne s'observe pas lorsque les hématies sont sphériques, tandis qu'elle est nette lorsqu'elles ne sont pas sphériques.

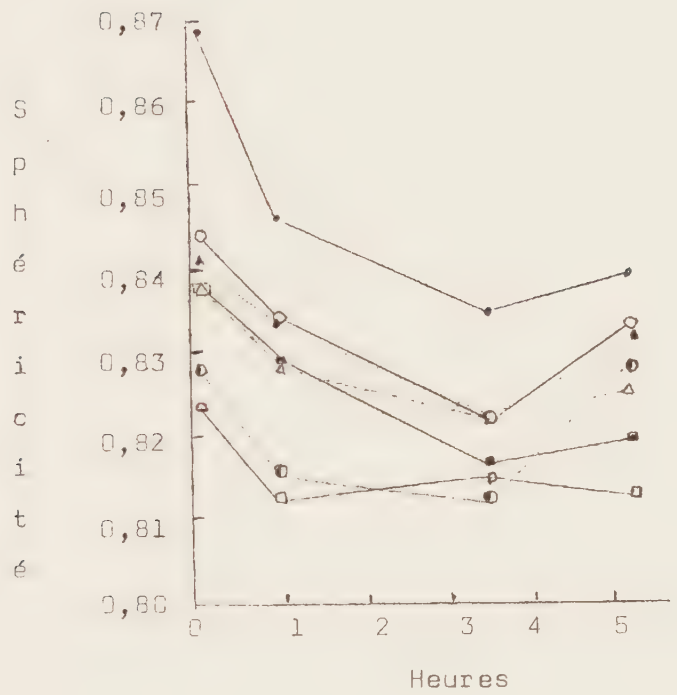


Fig. 9

En accord avec ces modifications de forme et de diamètre, la sphéricité augmente avec l'accroissement de la concentration oligolytique puis s'abaisse à nouveau. Ainsi, la sphéricité traduit-elle fidèlement la forme des érythrocytes.

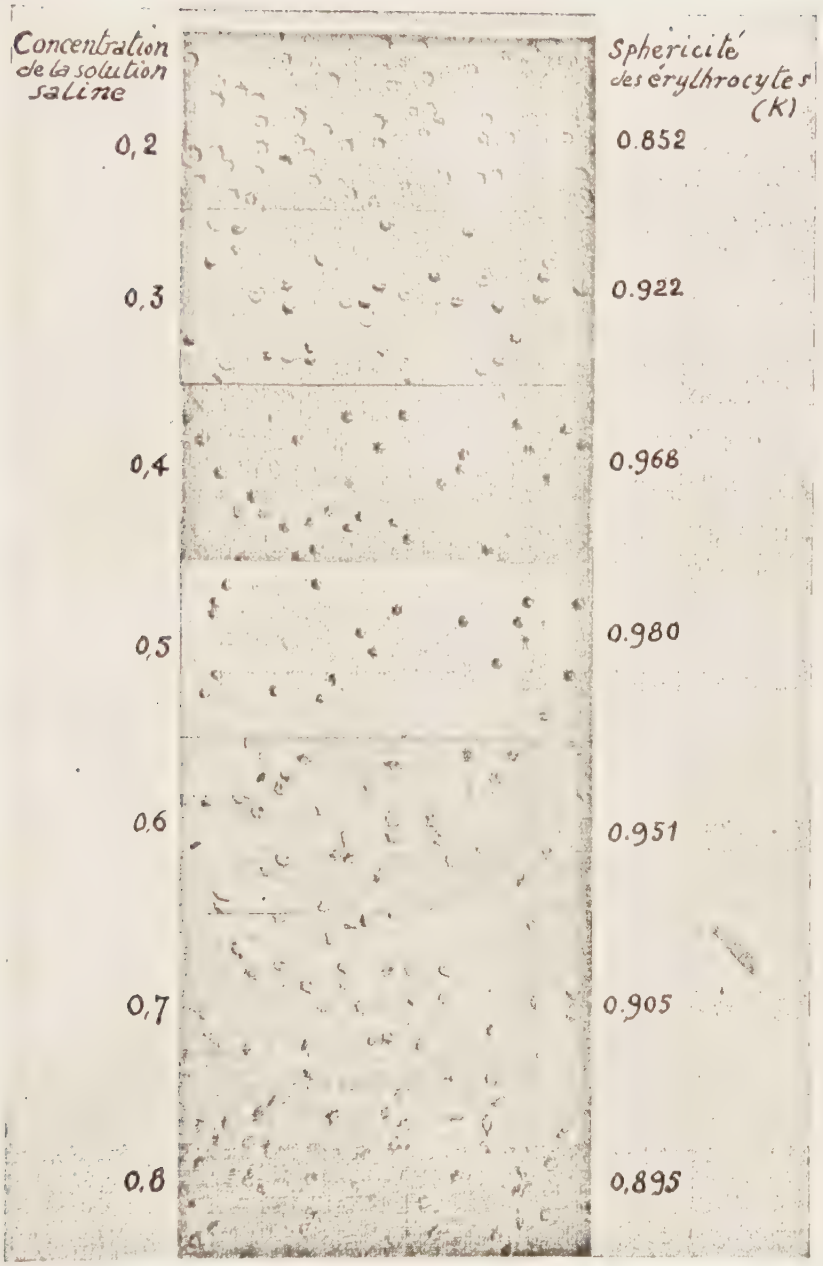


Photo 1 - Relation entre la sphéricité et la taille des érythrocytes en solution saline et concentration variée.

Photo tirée des travaux de KURODA et KOMATSU. Le Sang, 28, p. 883, 1957.

On s'était contenté jusqu'ici, pour évaluer ces modifications de forme, de mesurer l'épaisseur des globules. EMMONS (24 -1) mesurait la longueur de la colonne de rouleaux d'hématies, puis il divisait le chiffre obtenu par le nombre des globules accolés, obtenant ainsi leur épaisseur. PONDER (67) photographiait au microscope les hématies de profil, puis il en mesurait l'épaisseur sur les microphotographies. VAN BOROS (11 -1) calculait leur épaisseur à partir du volume et du diamètre moyen des corpuscules. Toutes ces méthodes sont toutefois incommodes et elles ne permettent pas d'évaluer fidèlement la forme des hématies.

Après avoir mis en évidence l'interaction de forme et de milieu de suspension des érythrocytes in vitro, il nous a paru utile de détailler les qualités physico-chimiques du milieu de suspension utilisé pour la mensuration érythrocytaire en chambre humide.

L'eau d'Uriage (Isère) se présente comme une eau minérale naturelle chlorurée sodique sulfureuse et - isotonique -

Véritable plasma naturel, pour reprendre les termes de FLEIG (27), elle est la seule eau minérale sulfureuse pouvant être injectée telle quelle dans les tissus. Le soufre s'y trouve à l'état de H^2S à la dose de 13,5 mgr/l. Assez fortement minéralisée, elle contient chlorures et sulfates de sodium, magnésium et calcium dans des proportions donnant à l'eau d'Uriage une de ses propriétés fondamentales :

L'Isotonie avec le sérum sanguin

On peut faire avec le sérume sanguin une comparaison de composition qui montre l'analogie de ces deux liquides, d'après LARAT (45), et en justifie l'emploi :

Composants minéraux	Sérum sanguin	Eau d'Uriage
Chlorure de sodiul	5,546	6,0567
Carbonate	1,552	1,5555
Sulfate de calcium	-	1,5205
" de potassium	0,281	-
" de magnésium	-	0,6048
" de sodium	-	1,1875
Phosphate de calcium	0,208	-
" de magnésium	0,218	-
Arseniate de soude	-	0,0021.
Point cryoscopique Δ T	0,56	0,58
pH	env. 7	6,85

Cette similitude de composition ionique entre les deux milieux (solvant et soluté) permet d'éviter un déséquilibre qui se traduit dans les suspensions de globules rouges en milieu non isotonique par une altération globulaire très rapide donnant le tableau de l'hématie crénelée, rétractée, rapetissée. Cette isotonie est démontrée :

I - Par une certaine ressemblance dans la composition et par la concentration moléculaire des deux liquides traduites par des valeurs voisines des points cryoscopiques respectifs

Δ T (sérum sanguin) = - 0,56

Δ T (eau d'Uriage) = - 0,58.

II - Par la signification de l'expérience de LARAT que nous avons reprise, tendant à démontrer in vitro ce que l'étude physico-chimique laissait prévoir ; en effet, une solution ayant même concentration et même abaissement du point de congélation que le sérum sanguin peut cependant hémolyser

les G.R. au moins partiellement. Prenant des tubes à essai remplis d'eau minérale provenant des différentes sources thermales telle Enghien, Uriage, Eaux-Bonnes, Vichy, Royat, La Bourboule, LARAT y ajoute une goutte de sang et après un séjour d'une heure à l'étuve à 37°, il centrifuge le contenu de ces tubes. Seul le liquide surnageant le culot de centrifugation du tube contenant l'eau d'Uriage est incolore. Dans les autres, l'hémolyse est soit partielle (par ex. eau de La Bourboule dont Δ T est aussi très voisin de celui du sérum sanguin), soit totale.

Ces expériences réalisées in vitro nous ont conduit à la notion d'isotonie physiologique d'un liquide par rapport au sérum sanguin, à savoir la propriété d'un liquide qui, au point de vue physico-chimique, peut être introduit ou mélangé à du sang, sans entraîner des phénomènes d'hémolyse ou d'altérations globulaires et sans provoquer de phénomènes de choc.

L'isotonie physiologique de l'eau d'Uriage pressentie à la suite de l'expérience de LARAT a été démontrée par la pratique des injections de cette eau aux malades, sans incidents aucuns.

Nous avons utilisé pour nos besoins l'eau d'Uriage conservée en ampoules de verre scellées à la lampe, faites en atmosphère d'azote et tyndallisées pendant 3 jours consécutifs pour obtenir une stérilité rigoureuse.

Pour assurer une stabilité remarquable du pH, on a utilisé un verre rigoureusement neutre pour les ampoules.

Le fait que nos mesures de diamètres érythrocytaires aient été effectuées sur des préparations de sang frais et non pas seulement de frottis secs, nous amène à reconsidérer la question des valeurs exactes du diamètre globulaire moyen (DM), du volume globulaire moyen (VM) et partant de l'hématocrite et de leurs rapports. Vu les mauvaises conditions de conservation globulaire habituelles et la répercussion sur le diamètre globulaire, nous avons cherché à créer des conditions de conservation optima pour les globules. Ceci, en les maintenant dans un milieu isotonique, avant tout : l'eau d'Uriage, pratiquement isotonique au plasma, remplissait ces conditions, permettant par ses propriétés minéralogiques de réaliser des suspensions globulaires parfaites dont le temps de conservation dépassait celui des préparations de sang pures. Ces conditions nous ont permis d'effectuer les mesures de diamètre sur sang frais veineux et capillaire tout en évitant l'apparition du phénomène d'altération globulaire, se traduisant par l'hématéxodie. En effet, des contrôles sériés effectués après un même laps de temps sur des préparations de suspensions globulaires dans l'eau d'Uriage et sur des préparations de sang pur ont montré un parfait état de conservation dans le premier cas, et une hématexodie prononcée dans le second. Nous avons eu également l'occasion de vérifier l'action du froid en plaçant les préparations pendant quelques heures à une température de + 4° Celsius : le froid agit dans le sens de la conservation du globule rouge, en restreignant l'hématexodie et en la retardant. De ces mesures comparatives effectuées sur la même préparation à intervalles donnés, il ressort que le temps de conservation habituelle sans altération cellulaire est dans les meilleures conditions de 20 minutes au maximum avec moyenne de 12 à 15' pour une température ambiante de 20° sur une préparation de sang veineux pur entre lame et lamelle, le prélèvement étant fait sur place au laboratoire. En suspension 1/1 le mélange de sang veineux pur et eau d'Uriage double

facilement la durée de conservation portant ainsi à 40 minutes le délai nécessaire pour effectuer le repérage des hématies bien isolées, les centrer dans le champ visuel afin d'éviter toute déformation optique et dessiner avec précision un minimum d'une centaine de contours érythrocytaires. Ce gain du temps de conservation érythrocytaire s'observe tant sur des sangs de sujets normaux que sur ceux de cas pathologiques. Dans quelques rares cas, nous avons même constaté une durée de conservation anormalement prolongée en milieu d'eau d'Uriage, nous avons, en effet, retrouvé la préparation après une heure et 40 minutes, sans noter une modification d'aspect cytologique ni de dimensions diamétrales.

Ainsi, l'application de cette méthode de mensuration du diamètre globulaire nous a permis d'établir les moyennes de normalités axiales et les zones graphiques correspondantes.

Les deux premiers tableaux (I et II) ci-dessous, indiquent un nombre restreint de chiffres du diamètre moyen obtenu chez deux séries de 10 individus normaux. Un troisième tableau (III) suivra, montrant quelques cas pathologiques.

Les données et résultats érythrocytométriques normaux sont reportés sur les deux tableaux résumés ; sur ceux-ci le diamètre moyen est étudié en fonction du volume globulaire moyen. Ce point est important dans l'étude biocytométrique de l'hématie. La progression arithmétique suit le sens de la flèche (Tableaux I et II).

On trouve en complément les courbes sériées de Price-Jones faites comparativement sur le sang frais, de sang frais avec eau d'Uriage et du sang desséché sur frottis et établis chez des sujets normaux, de même que le tableau III sera suivi d'une série de graphiques illustrant quelques cas pathologiques étudiés.

TABLEAU I

ETUDE DU SANG VEINEUX

1 - Cas normaux

DF = diamètre moyen, sang frais, en microns - DFU = diamètre moyen, sang frais + eau d'Uriage en microns - DS = diamètre moyen, frottis de sang en micr

Première série

	CAS	Hémato-crite	Vol. globul. moyen	Sang frais			Sang frais + Uriage		Frottis DS	DF - DFU	DF - DS	DFU - DS
				Amas	Crénel. épines	DF		DFU				
1	H...	48	90,5			8,66		8,51	8,07	+ 0,15	+ 0,59	+ 0,44
2	Mad. G...	46,5	97	+		8,49		8,45	7,99	+ 0,04	+ 0,50	+ 0,46
3	K...	55	101			8,61		8,74	8,13	- 0,13	+ 0,48	+ 0,61
4	N...	49	101	+		8,74		9,08	8,05	- 0,34	+ 0,69	+ 1,03
5	Mad. WI...	42,5	102	+		8,59		8,65	7,52	- 0,06	+ 1,07	+ 1,13
6	Mad. WE...	42,5	103			8,38		8,41	7,77	- 0,03	+ 0,61	+ 0,64
7	D...	56	104	+		8,74		8,68	7,70	+ 0,06	+ 1,04	+ 0,92
8	H...	44	104			8,16	Crénel. +	8,40	7,53	- 0,24	+ 0,61	+ 0,87
9	L...	46,5	106			8,76		9,12	7,98	- 0,36	+ 0,78	+ 1,14
10	M...	53	108	+		9,33		9,33	8,42	0	+ 0,91	+ 0,91

N 1

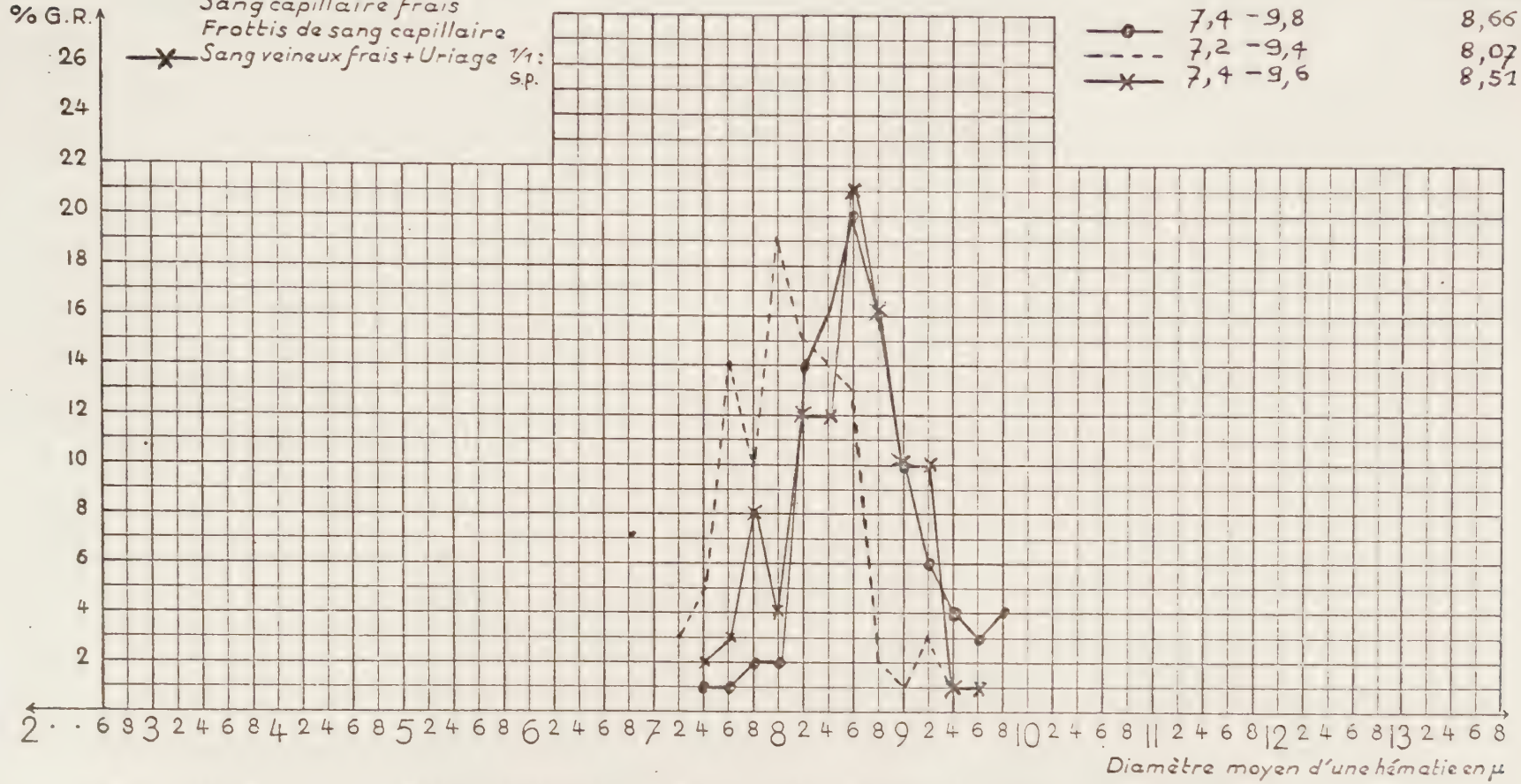
$V_m = 90{,}5\,\mu^3$

Sang veineux frais : s.p.
Frottis de sang veineux : s.p.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : 48 - 48
" "
Globules rouges : 5.300.000 - Hb. 111 %

Etalement des courbes et D. moyen %

—●—	7,4 - 9,8	8,66
- - - -	7,2 - 9,4	8,07
—×—	7,4 - 9,6	8,51



Nom : H. G. Date : 26.10.53 Diagnostic : Normal Observations : Néant

N 2

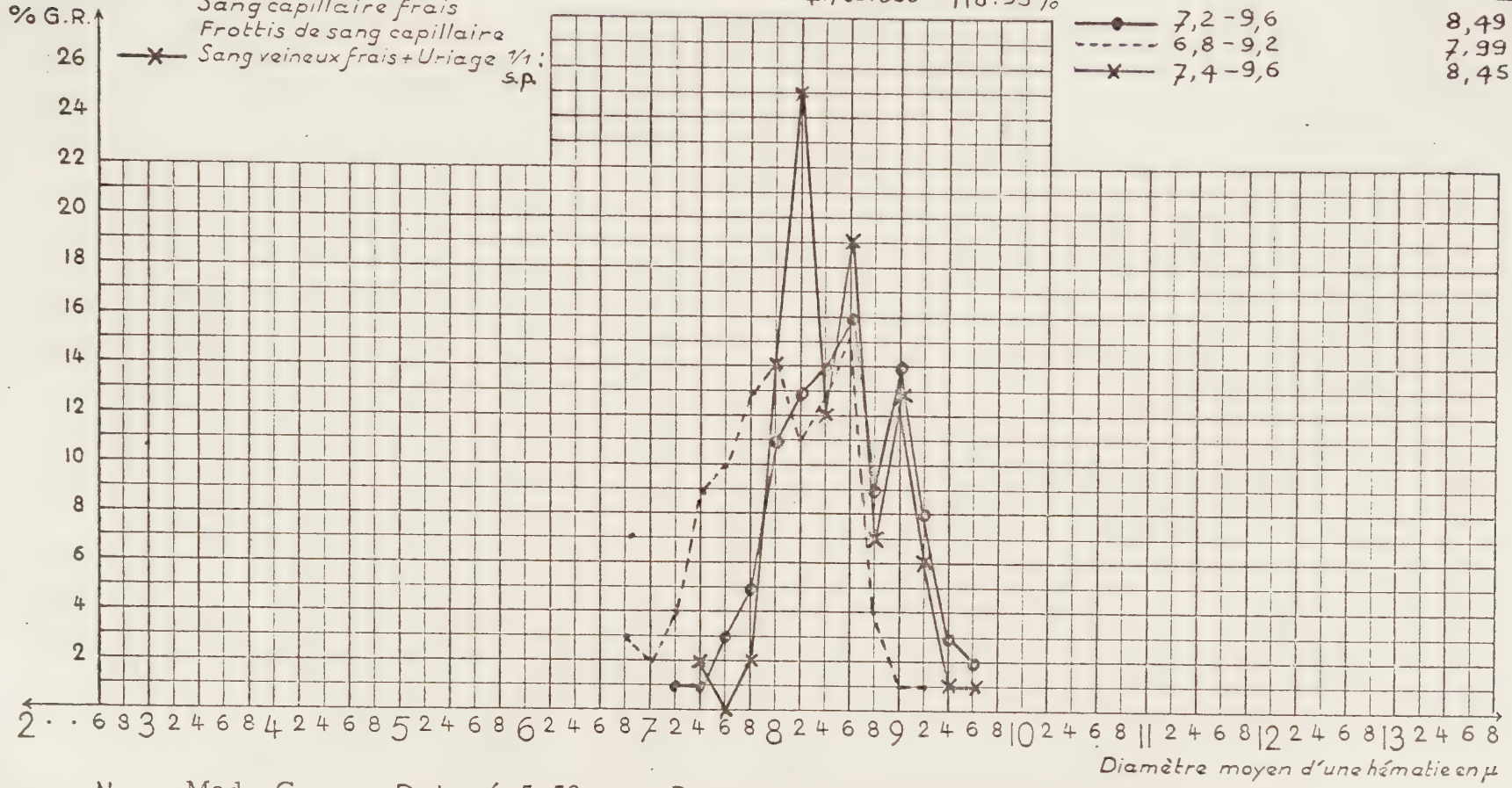
$V_m = 97 \mu^3$

Sang veineux frais : A+, Pø
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite ♂ 47 - 47 ♀ 46 - 46
Globules rouges 4.760.000 – Hb. 95 %

Etalement des courbes et D. moyen %

——●——	7,2 - 9,6	8,49
- - - - -	6,8 - 9,2	7,99
——×——	7,4 - 9,6	8,45



Nom: Mad. G Date: 6. 5. 53 Diagnostic: Normal Observations: Néant

$V_m = 101 \mu^3$

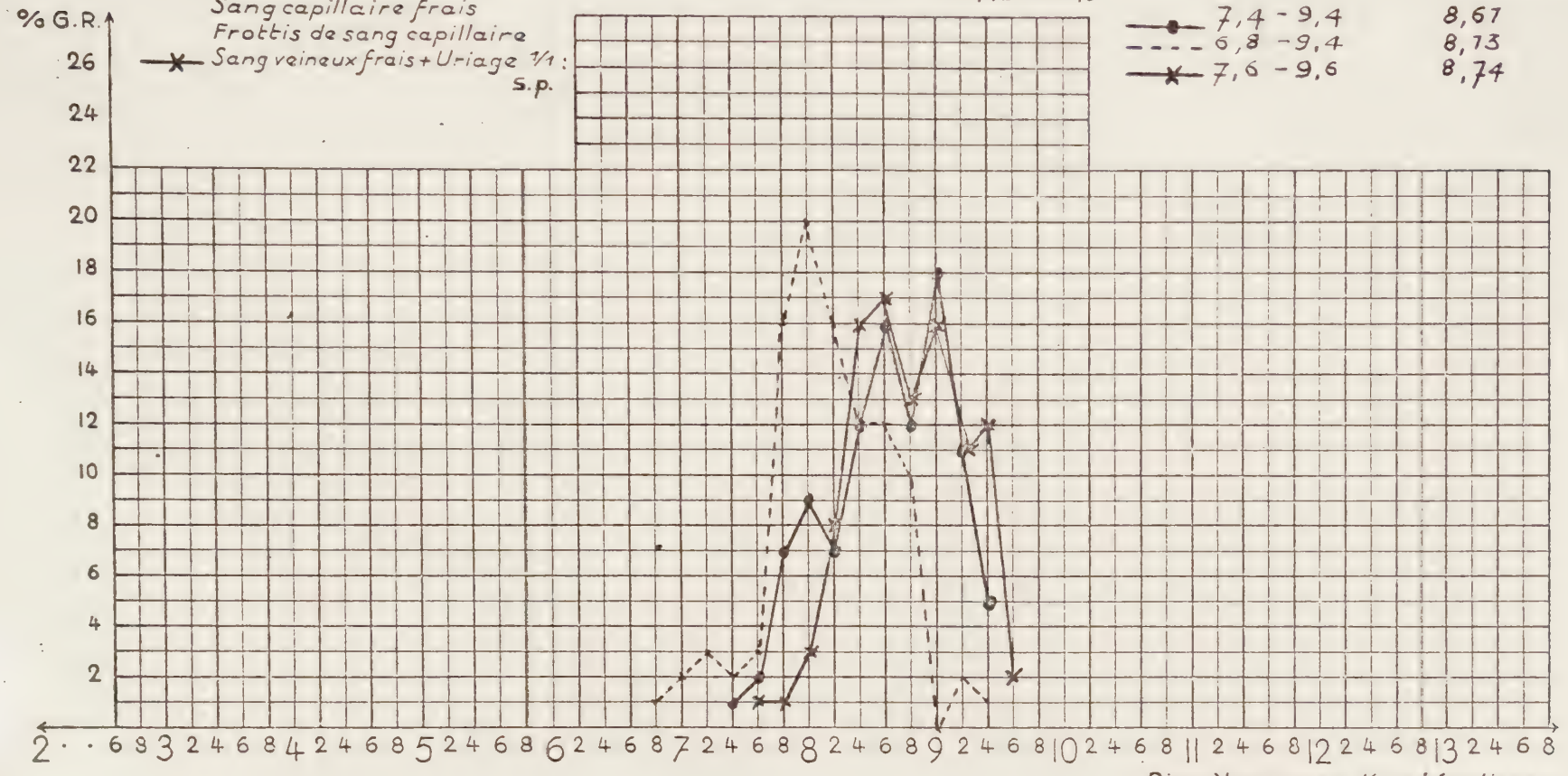
N 3

Sang veineux frais : s.p.
Frottis de sang veineux : s.p.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : 55 - 55 ½
Globules rouges : 5.420.000 - Hb. 110 %

Etalement des courbes et D. moyen %

——●——	7,4 - 9,4	8,67
- - - -	6,8 - 9,4	8,13
——✕——	7,6 - 9,6	8,74



Nom : K. R. Date : 22. 6. 54 Diagnostic : Normal Observations : Néant

N 4

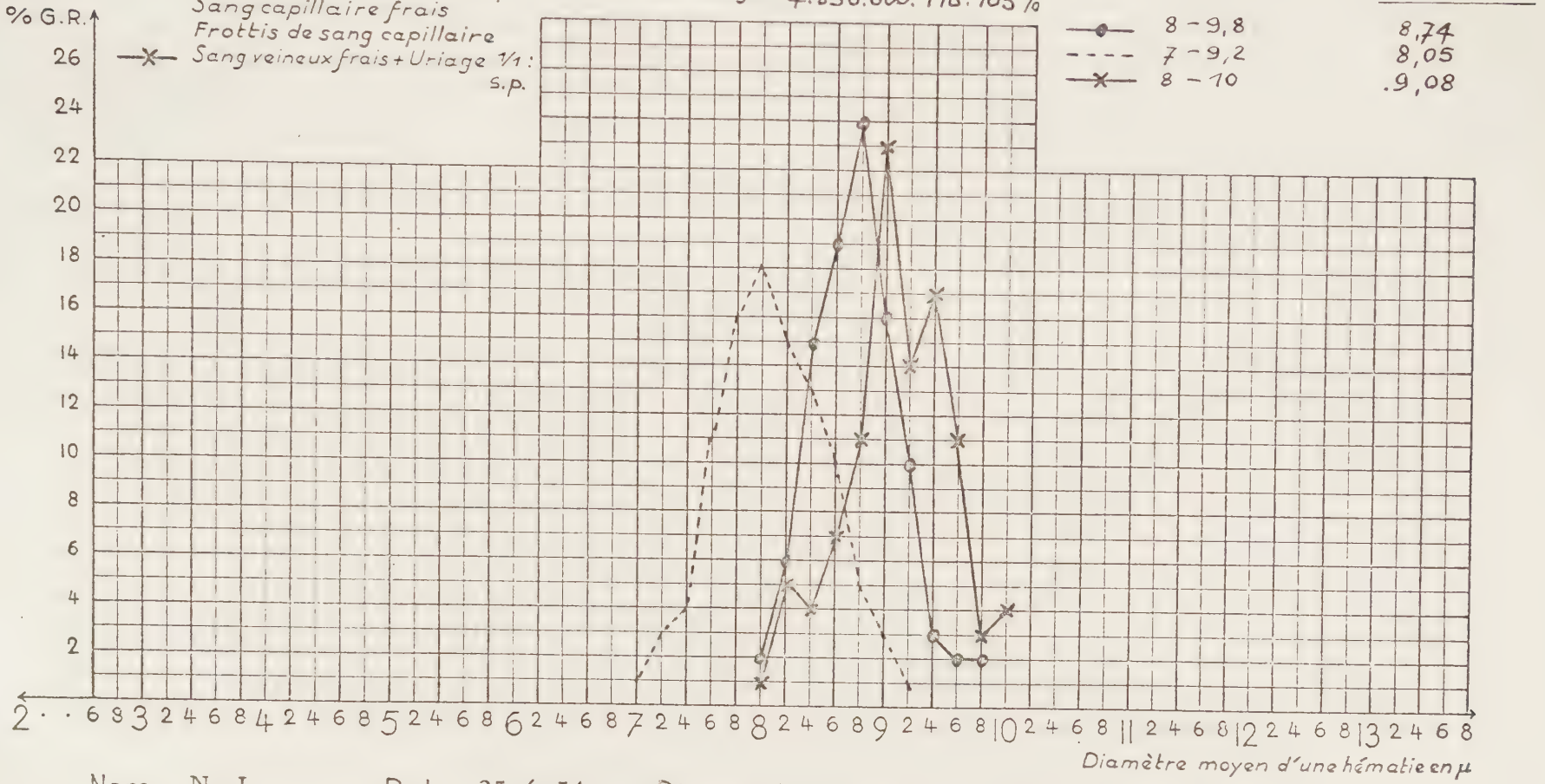
$V_m = 101 \mu^3$

Sang veineux frais : A+
Frottis de sang veineux : s.p.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : $<^{49-50}_{48-49}$
Globules rouges : 4.850.000. Hb. 105 %

Etalement des courbes et D. moyen %

—●—	8 – 9,8	8,74
- - - -	7 – 9,2	8,05
—×—	8 – 10	9,08



Nom: N. L. Date: 25. 6. 54 Diagnostic: Normal Observations: Néant

N 5

$V_m = 102 \mu^3$

Hématocrite: 42½ – 43 / 42 – 42½

Globules rouges: 4.130.000 – Hb. 84%

Sang veineux frais : P+

Frottis de sang veineux : s.p.

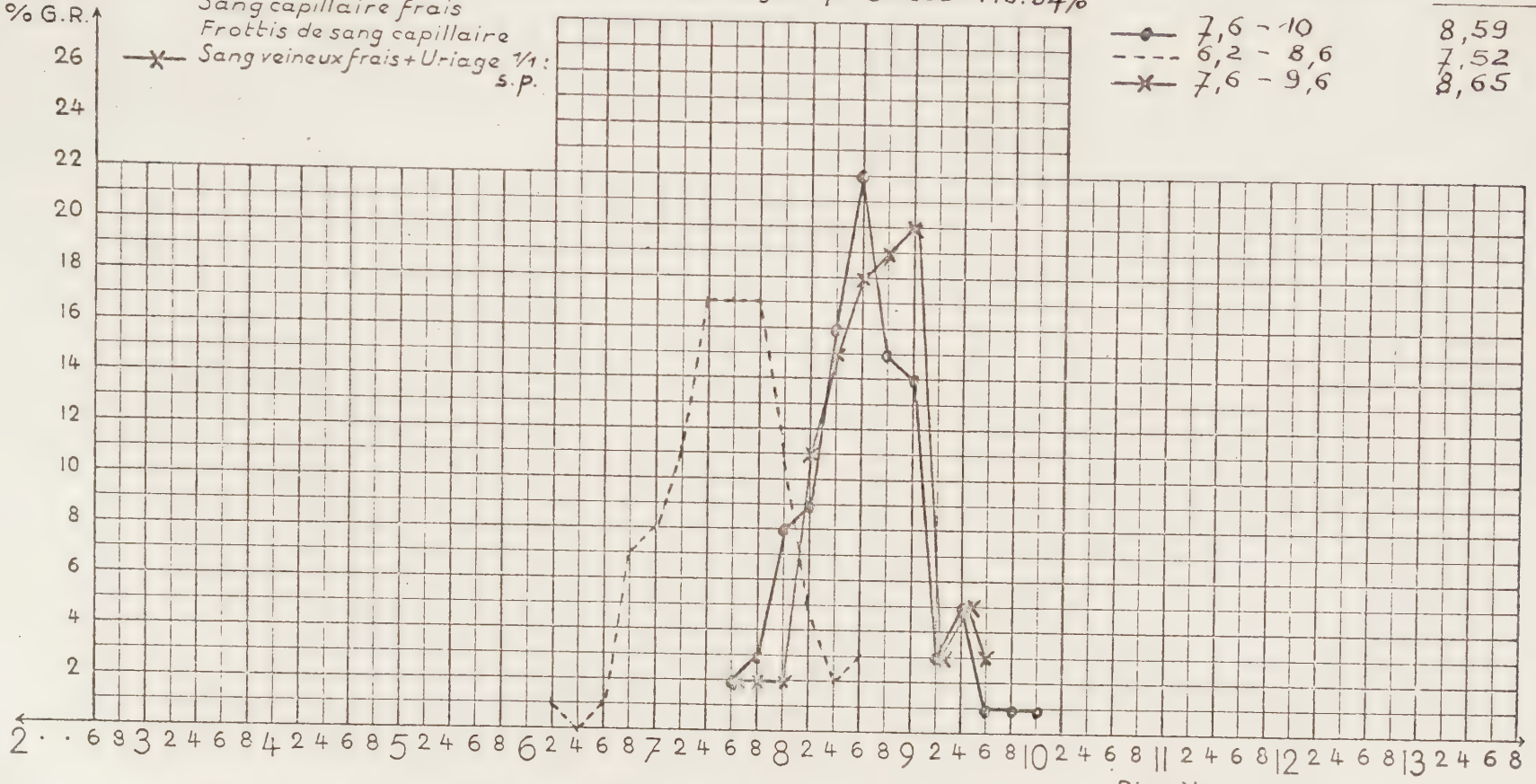
Sang capillaire frais

Frottis de sang capillaire

Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Etalement des courbes et D. moyen %

—●—	7,6 – 10	8,59
- - - -	6,2 – 8,6	7,52
—×—	7,6 – 9,6	8,65



Diamètre moyen d'une hématie en μ

Nom: Mad. W. J. Date: 6.7.54 Diagnostic: Normal Observations: Néant

N 6

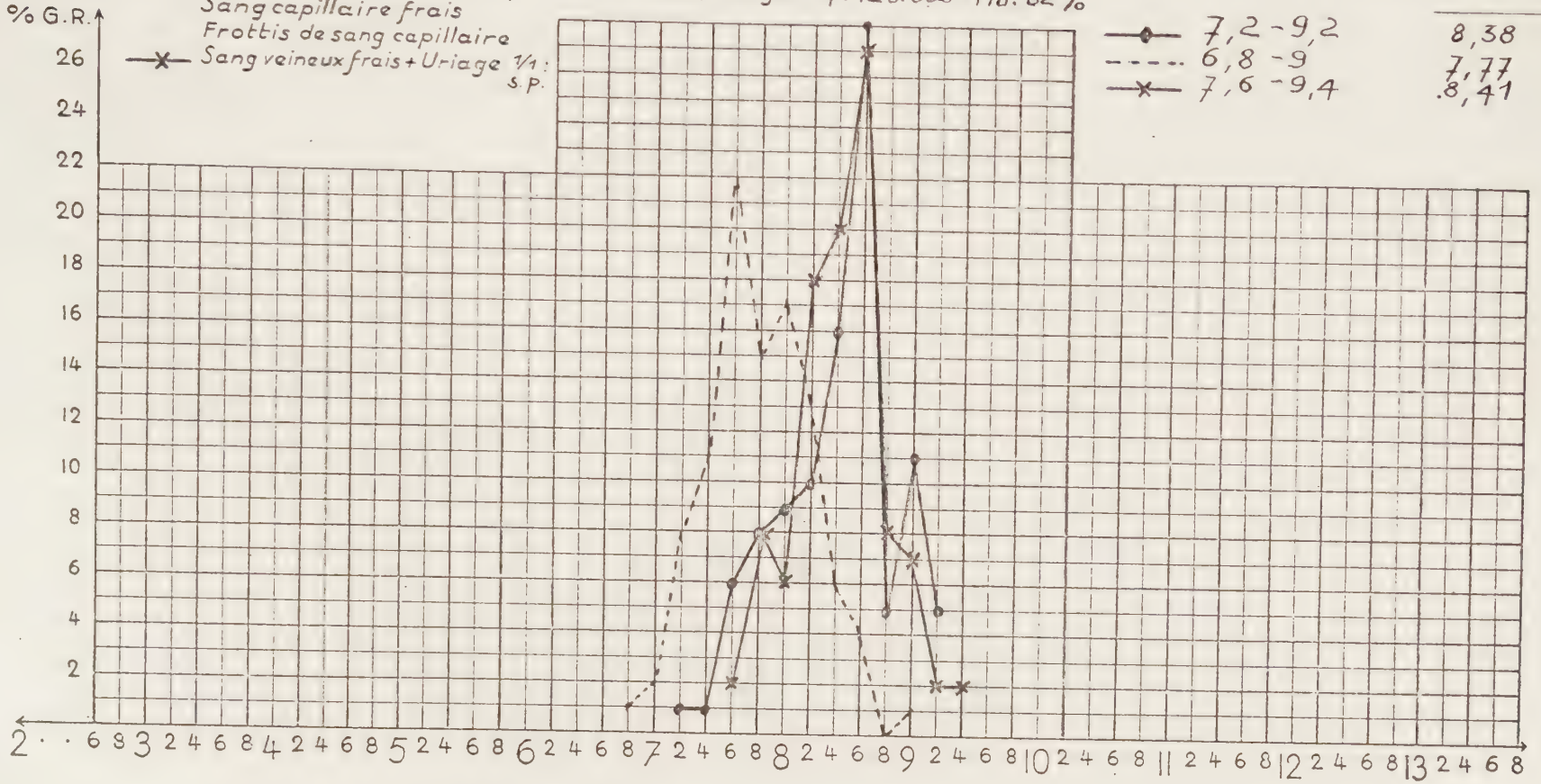
$V_m = 103 \mu^3$

Sang veineux frais : S.P.
Frottis de sang veineux : S.P.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : S.P.

Hématocrite : $\frac{42 - 43}{42 - 43}$
Globules rouges : 4.120.000 - Hb. 82 %

Etalement des courbes et D. moyen %

7,2 - 9,2	8,38
6,8 - 9	7,77
7,6 - 9,4	8,41



Nom : Mad. W.D. Date : 8.7.54 Diagnostic : Normal Observations : Néant

$V_m = 104\ \mu^3$

N 7

Sang veineux frais : A+, P∅

Frottis de sang veineux : s.p

Sang capillaire frais

Frottis de sang capillaire

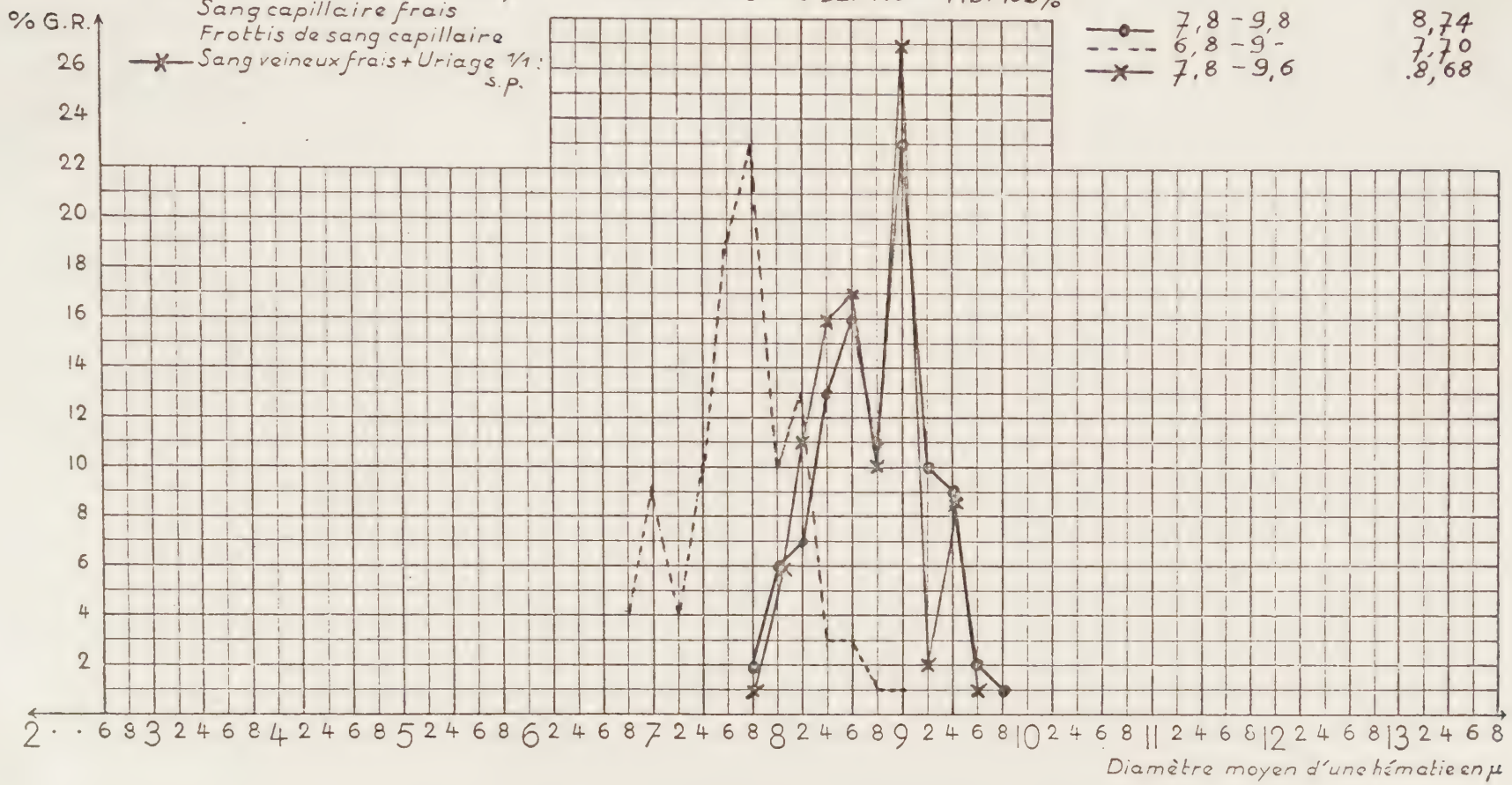
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : $<^{56-56\frac{1}{2}}_{55-55\frac{1}{2}}$

Globules rouges : 5.320 000 - Hb. 108 %

Etalement des courbes et D. moyen %

—o—	7,8 - 9,8	8,74
- - - -	6,8 - 9 -	7,70
—x—	7,8 - 9,6	8,68



Nom : D. E. Date : 18. 2. 54 Diagnostic : Normal Observations : Néant

$V_m = 104\,\mu^3$

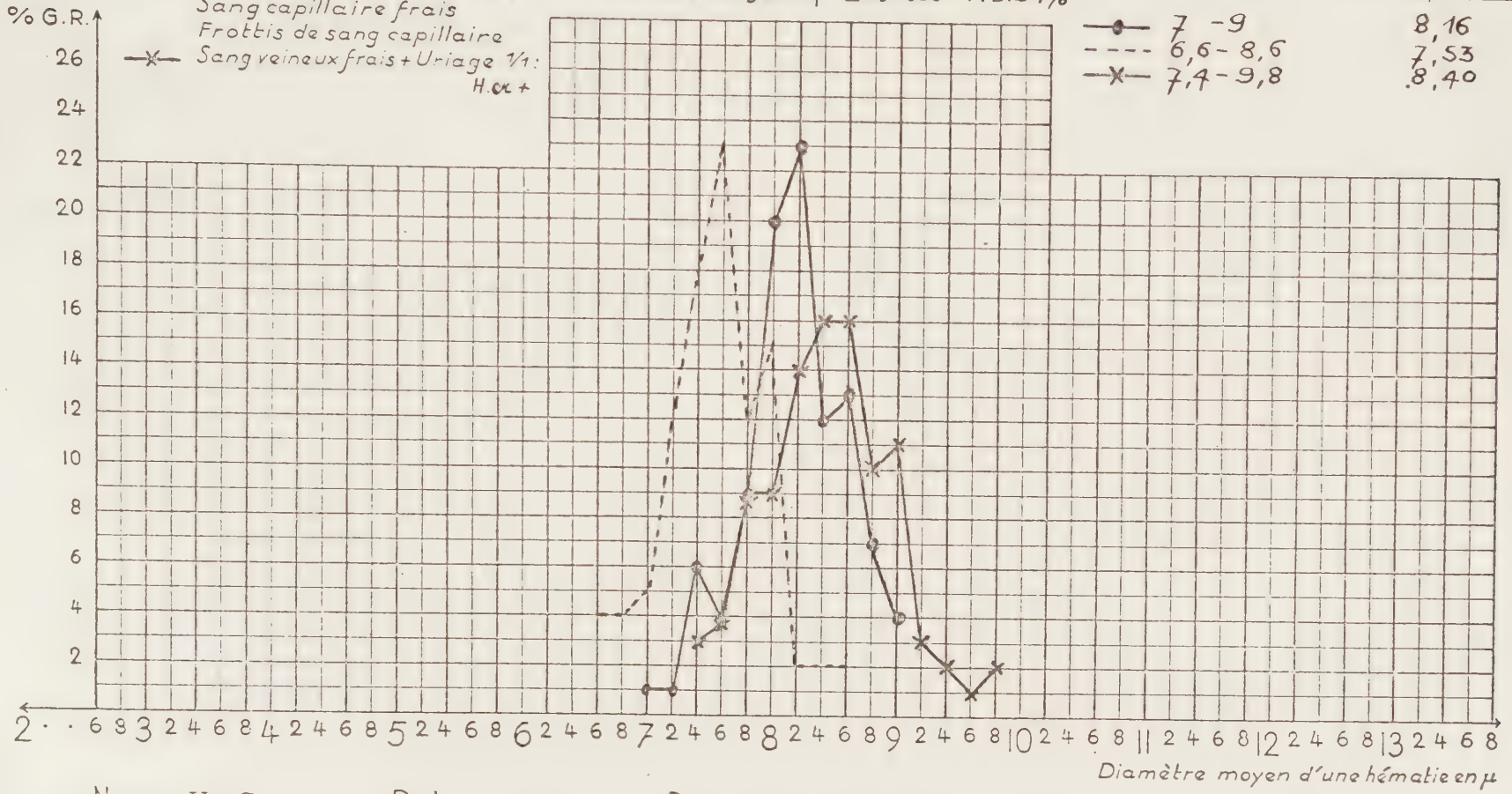
N 8

—o— Sang veineux frais : s.p.
– – – Frottis de sang veineux : s.p.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
—x— Sang veineux frais + Uriage 1/1 : H.α +

Hématocrite : < 43½ – 44 / 43½ – 44
Globules rouges : 4.200.000 – Hb. 91%

Etalement des courbes et D. moyen %

—o—	7 – 9	8,16
– – –	6,6 – 8,6	7,53
—x—	7,4 – 9,8	8,40



Nom : H. G. Date : 28. 9. 53 Diagnostic : Normal Observations : Néant

N 9

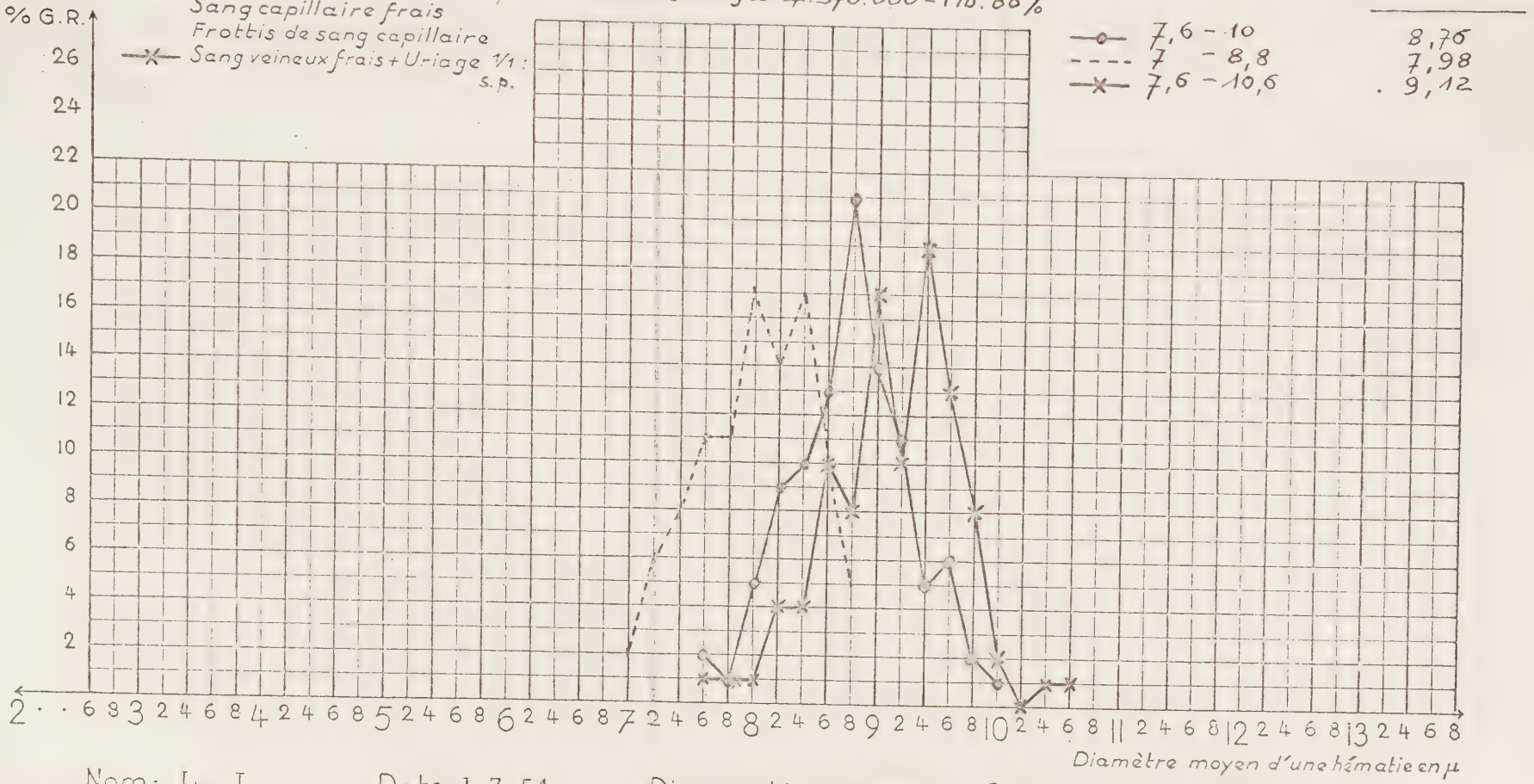
$V_m = 106 \mu^3$

Sang veineux frais : s.p.
Frottis de sang veineux : s.p.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : 46 ½ - 47 " "
Globules rouges : 4.370.000 - Hb. 88 %

Etalement des courbes et D. moyen %

——o——	7,6 - 10	8,76
- - - -	7 - 8,8	7,98
——x——	7,6 - 10,6	9,12



Nom : L. J. Date : 1. 7. 54 Diagnostic : Normal Observations : Néant

$V_m = 108 \mu^3$

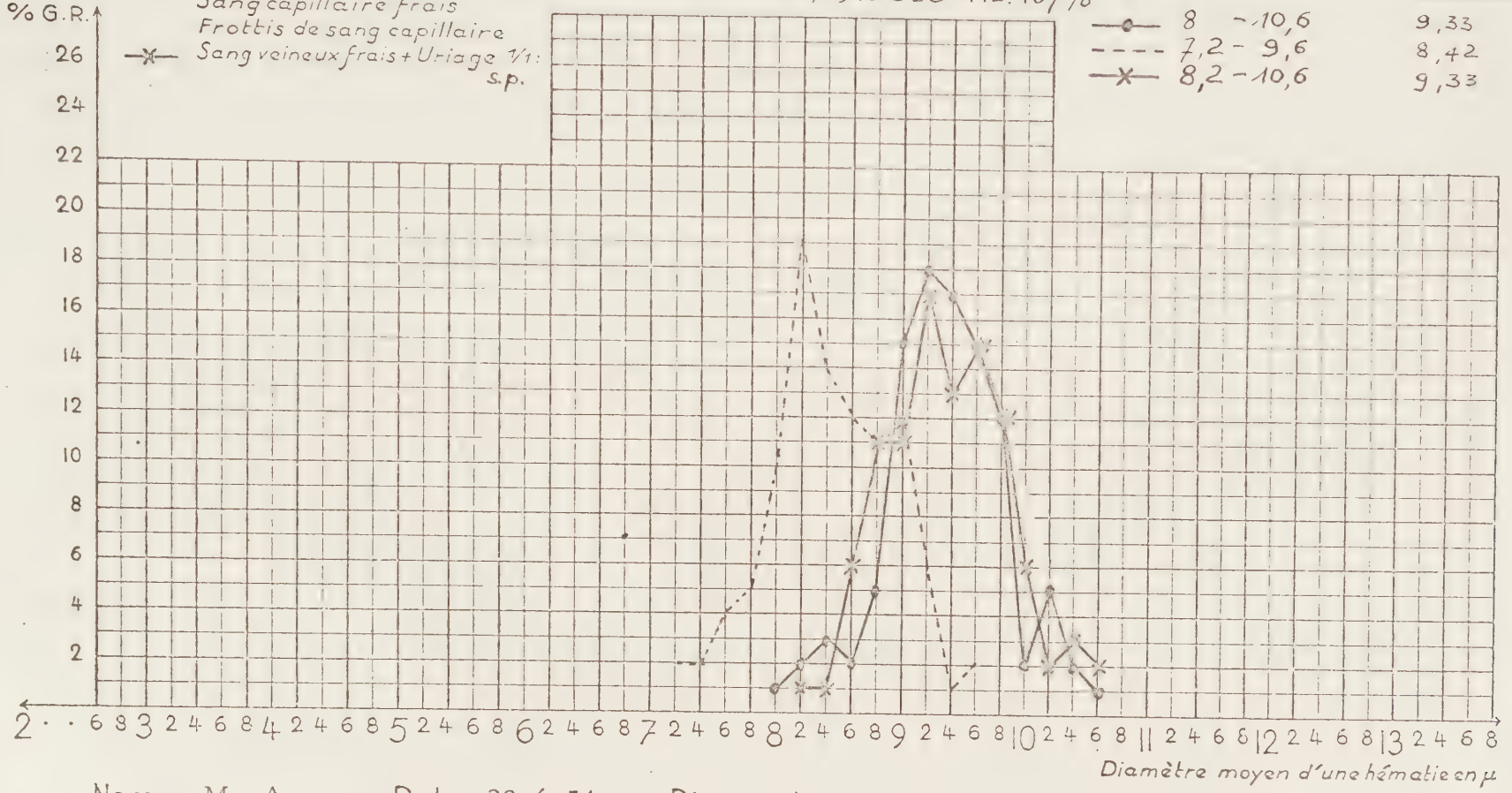
N 10

Sang veineux frais : A+
Frottis de sang veineux : s.p.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : $< \frac{53\frac{1}{2} - 54}{52\frac{1}{2} - 53}$
Globules rouges : 4.910.000 - Hb. 107 %

Etalement des courbes et D. moyen %

—o—	8 - 10,6	9,33
- - - -	7,2 - 9,6	8,42
—x—	8,2 - 10,6	9,33



Diamètre moyen d'une hématie en μ

Nom: M. A. Date: 29. 6. 54 Diagnostic: Normal Observations: Néant

TABLEAU II

Cas normaux

Deuxième série

	CAS	Hémato-crite	Vol. globul. moyen	Sang frais					Sg frais + Uriage		Frottis DS	DF - DFU	DF - DS	DFU - DF
				Amas	Piles	Crénel.	Ep.	DF	Amas + piles	DFU				
1	Mad. C...	41	91	+	+			8,12		8,40	8,03	+ 0,28	- 0,09	0,57
2	D...	46	92	+				8,59	±	8,59	7,66	0	- 0,93	0,93
3	B...	45	95					8,35		8,52	8,06	+ 0,17	- 0,29	0,46
4	S...	44	97					8,18		8,51	7,84	+ 0,33	- 0,34	0,67
5	R...	52,25	98	+	+			9,05		8,84	7,57	- 0,21	- 1,48	1,27
6	W...	49	98					8,12		8,59	7,98	+ 0,47	- 0,14	0,61
7	Mad. B...	44	99					8,63		8,90	8,14	+ 0,27	- 0,49	0,76
8	C...	49,5	103	+	(+)			8,81		8,86	7,94	+ 0,05	- 0,87	0,92
9	Mad. H...	49	103	+	+		+	8,49		8,67	7,68	+ 0,18	- 0,81	0,99
10	Mad. DR...	49	106	+	+		+	8,30	+	8,57	7,56	+ 0,27	- 0,74	1,01

$V_m = 91 \mu^3$

N° 41

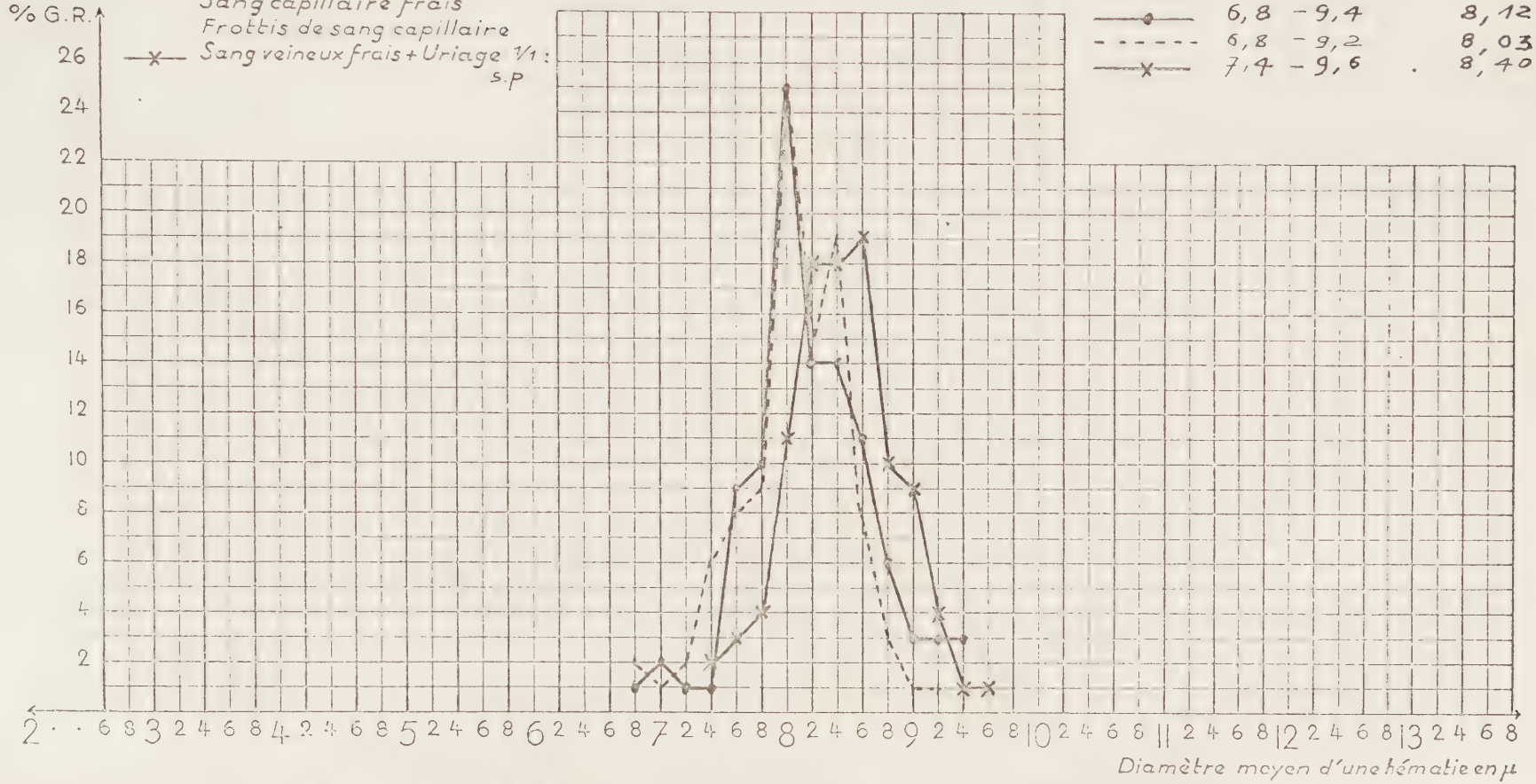
Sang veineux frais : A++ P+
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : S.P

Hématocrite : < 41 – 41½ / 41 – 41
Globules rouges : 4.490.000

Hb 93%

Etalement des courbes et D. moyen %

—●—	6,8 – 9,4	8,12
- - - - -	6,8 – 9,2	8,03
—×—	7,4 – 9,6	8,40



Nom : Mad. C. R. Date : 4. 5. 53 Diagnostic : Observations :

N° 12

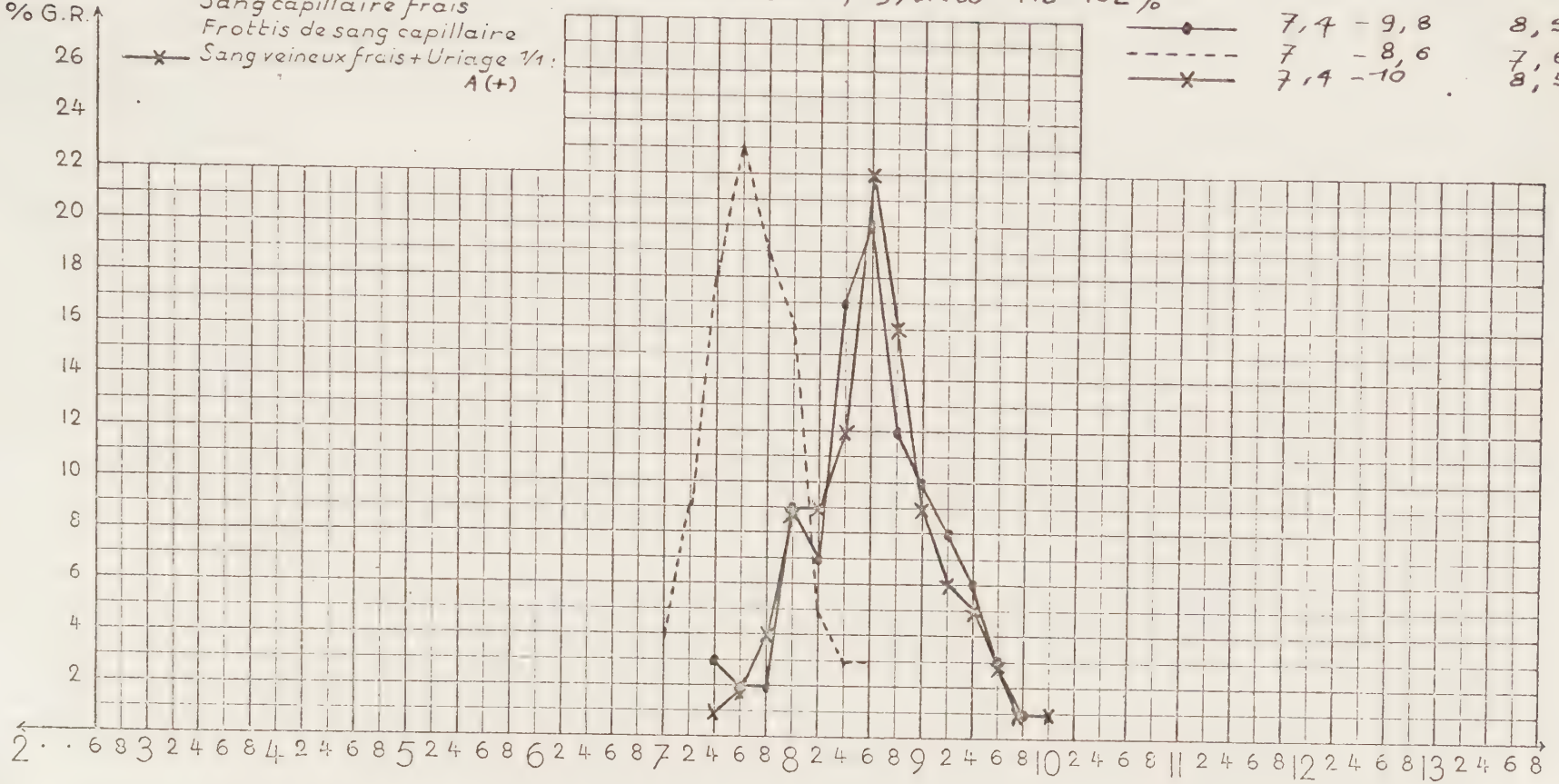
$V_m = 92\ \mu^3$

Sang veineux frais : A+
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : A (+)

Hématocrite : < 46 - 46 / 46 - 46
Globules rouges : 4 · 970 · 000 Hb 102 %

Etalement des courbes et D. moyen %

——●——	7,4 - 9,8	8,5975
- - - - -	7 - 8,6	7,6605
——×——	7,4 - 10	8,5970



Nom : D. Ch. Date : 27.5.53 Diagnostic : Observations :

N° 13

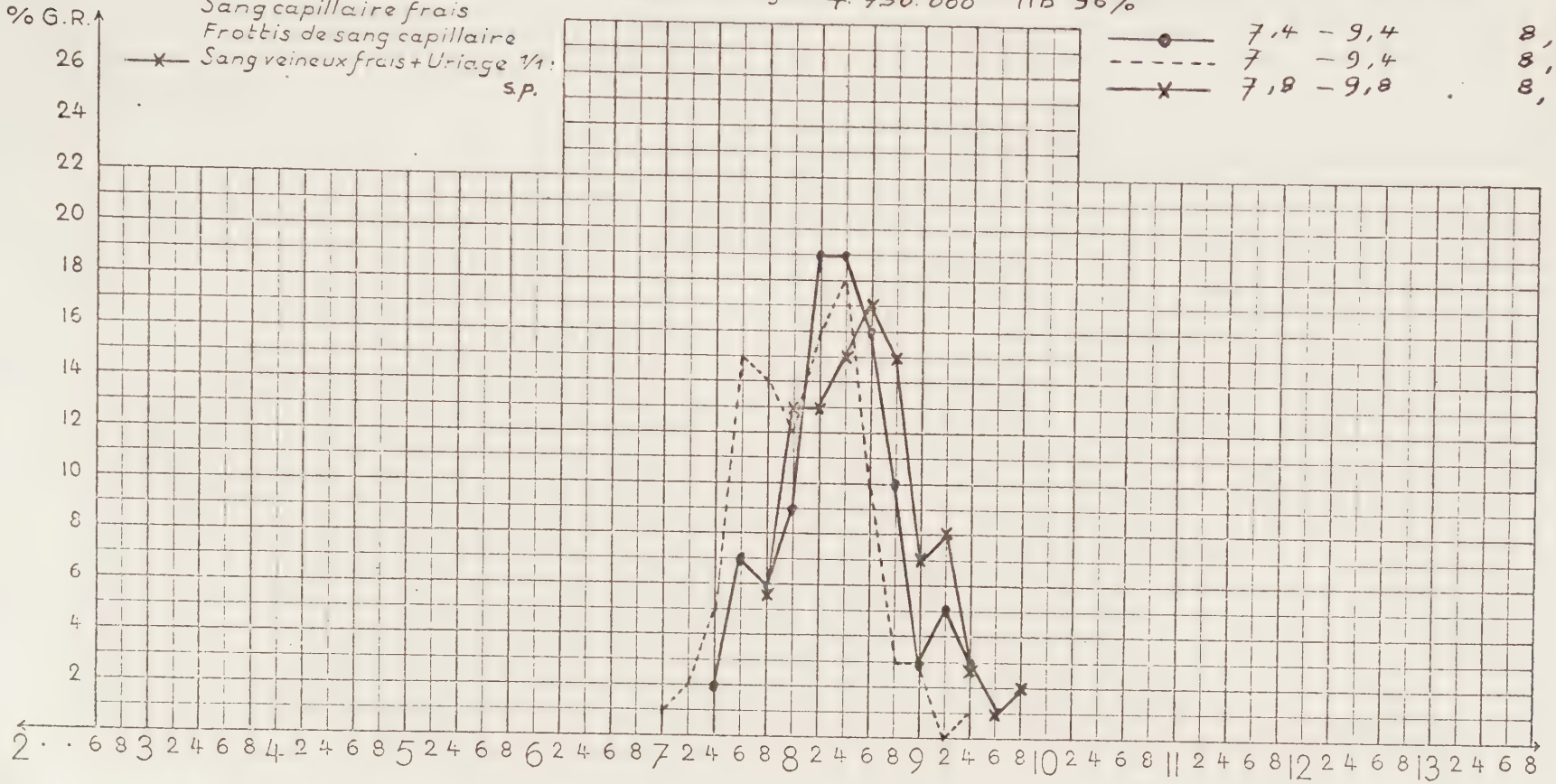
$V_m = 95\ \mu^3$

Sang veineux frais : P ø
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : < 45 – 45 ½ / 45 – 45
Globules rouges : 4.730.000 Hb 96%

Etalement des courbes et D. moyen %

—●—	7,4 – 9,4	8,35
- - - - -	7 – 9,4	8,06
—×—	7,8 – 9,8	8,52



Nom : B. Fr. Date : 9.3.53 Diagnostic : Observations :

N° 14

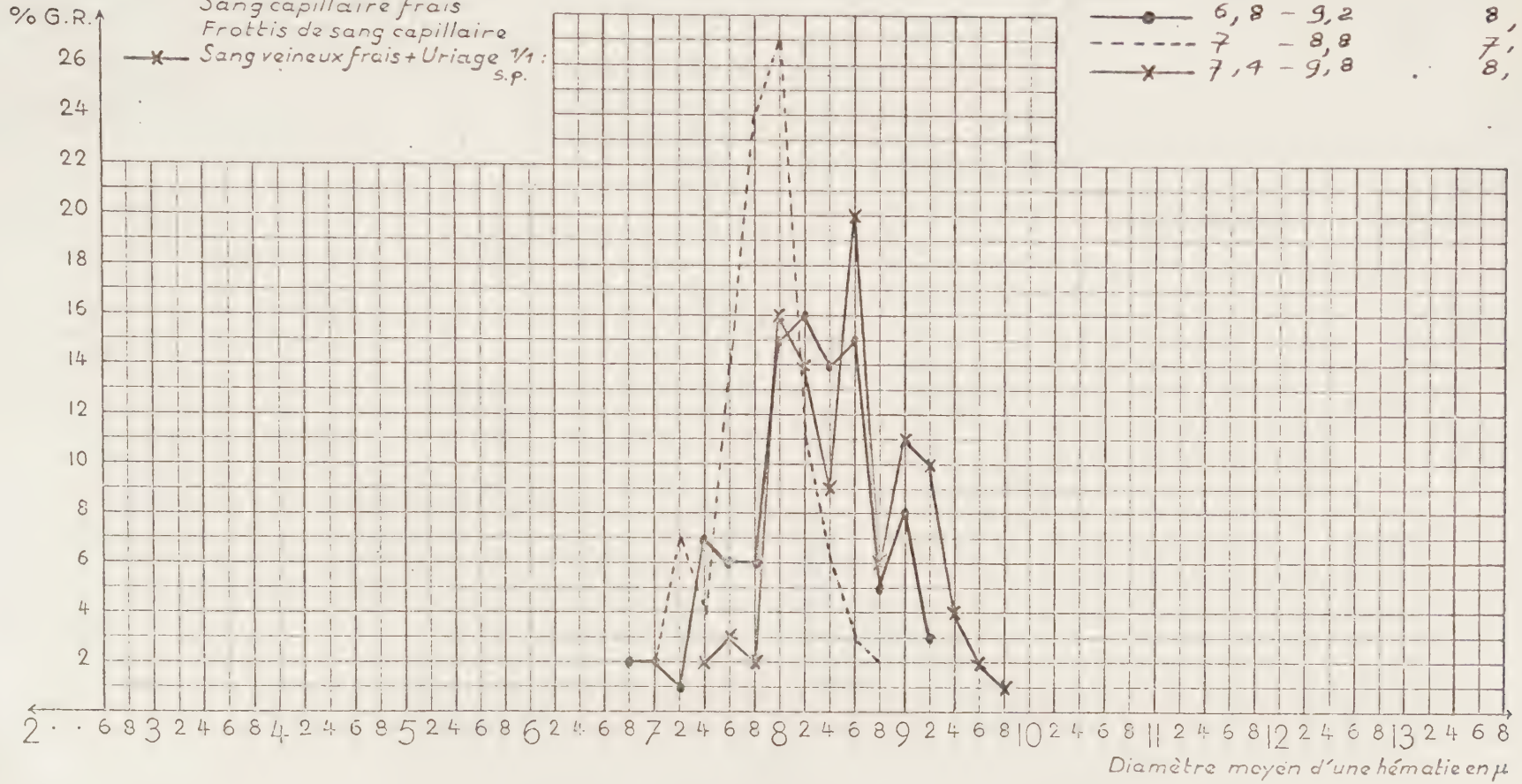
$Vm = 97\ \mu^3$

Sang veineux frais : s.p.
Frottis de sang veineux : s.p.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : < 44 - 43 1/2
Globules rouges : 4.480.000 Hb 91%

Etalement des courbes et D. moyen %

——●——	6,8 – 9,2	8,18
- - - - -	7 – 8,8	7,84
——×——	7,4 – 9,8	8,51



Nom : S. Ch. Date : 9.2.53 Diagnostic : Observations :

N° 15

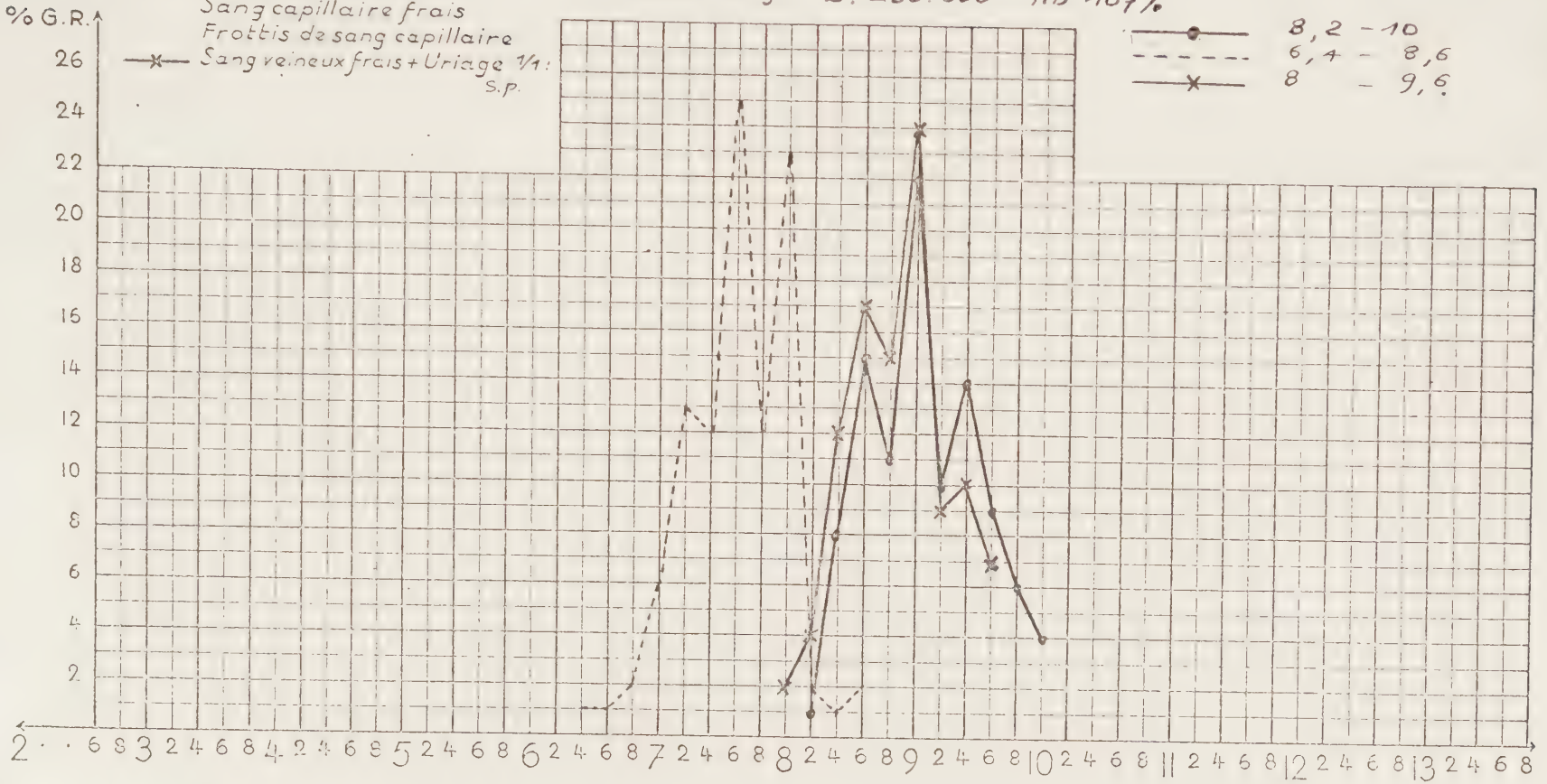
$Vm = 98\ \mu^3$

Sang veineux frais A ++
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 S.p.

Hématocrite: < 52 ½ – 53 / 51 ½ – 52
Globules rouges: 5.280.000 Hb 107 %

Etalement des courbes et D. moyen %

8,2 – 10		9,05
6,4 – 8,6		7,57
8 – 9,6		8,84



Diamètre moyen d'une hématie en μ

Nom: R. R. Date: 9.10.54 Diagnostic: Observations:

N° 16

$V_m = 98\ \mu^3$

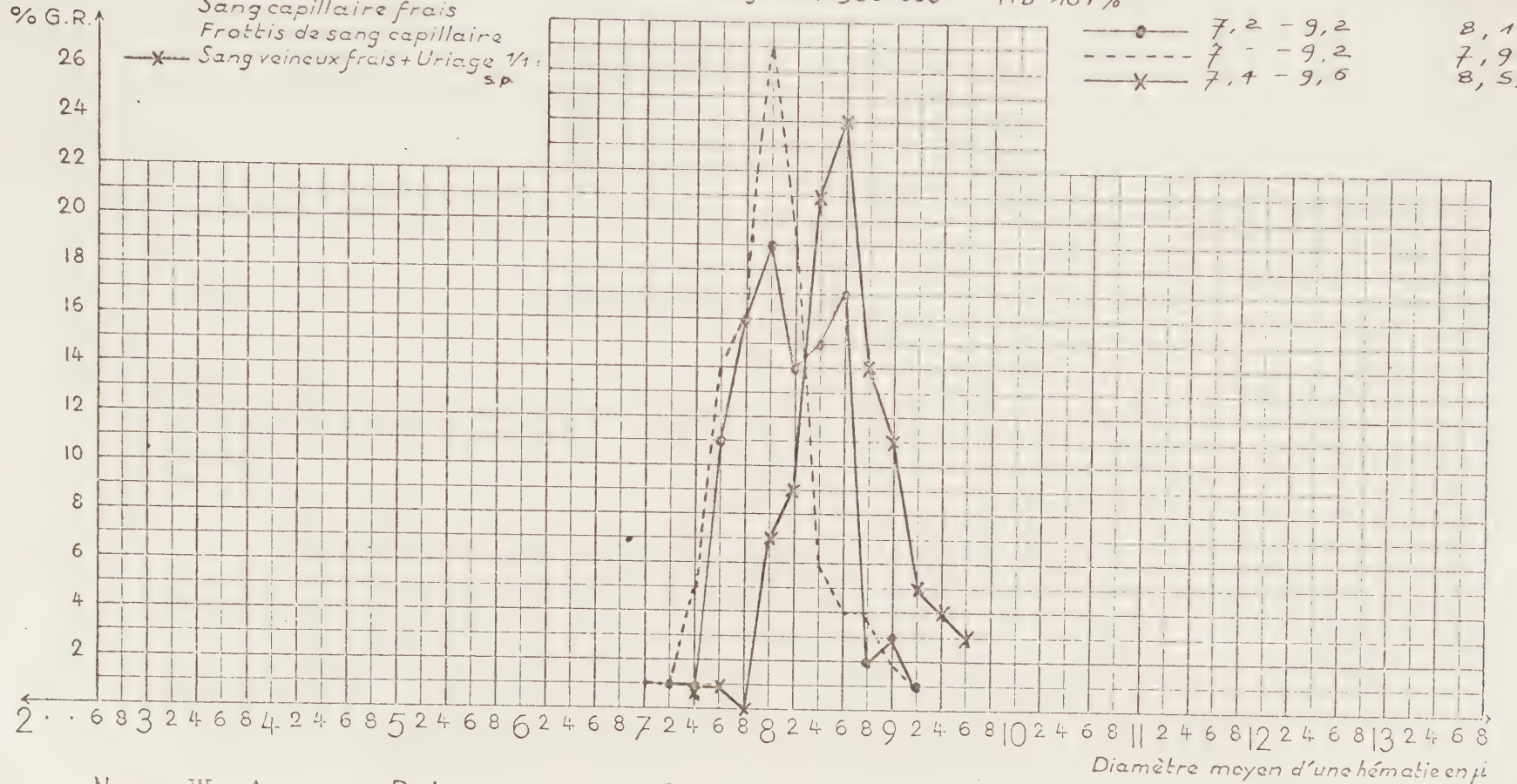
Sang veineux frais : s.p.
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : < 49 - 49 %
" "
Globules rouges : 4 980 000

Hb 101 %

Etalement des courbes et D. moyen %

—●—	7,2 - 9,2	8,12
- - - - -	7 - 9,2	7,98
—×—	7,4 - 9,6	8,59



Nom : W. A. Date : 15.10.54 Diagnostic : Observations :

N° 7

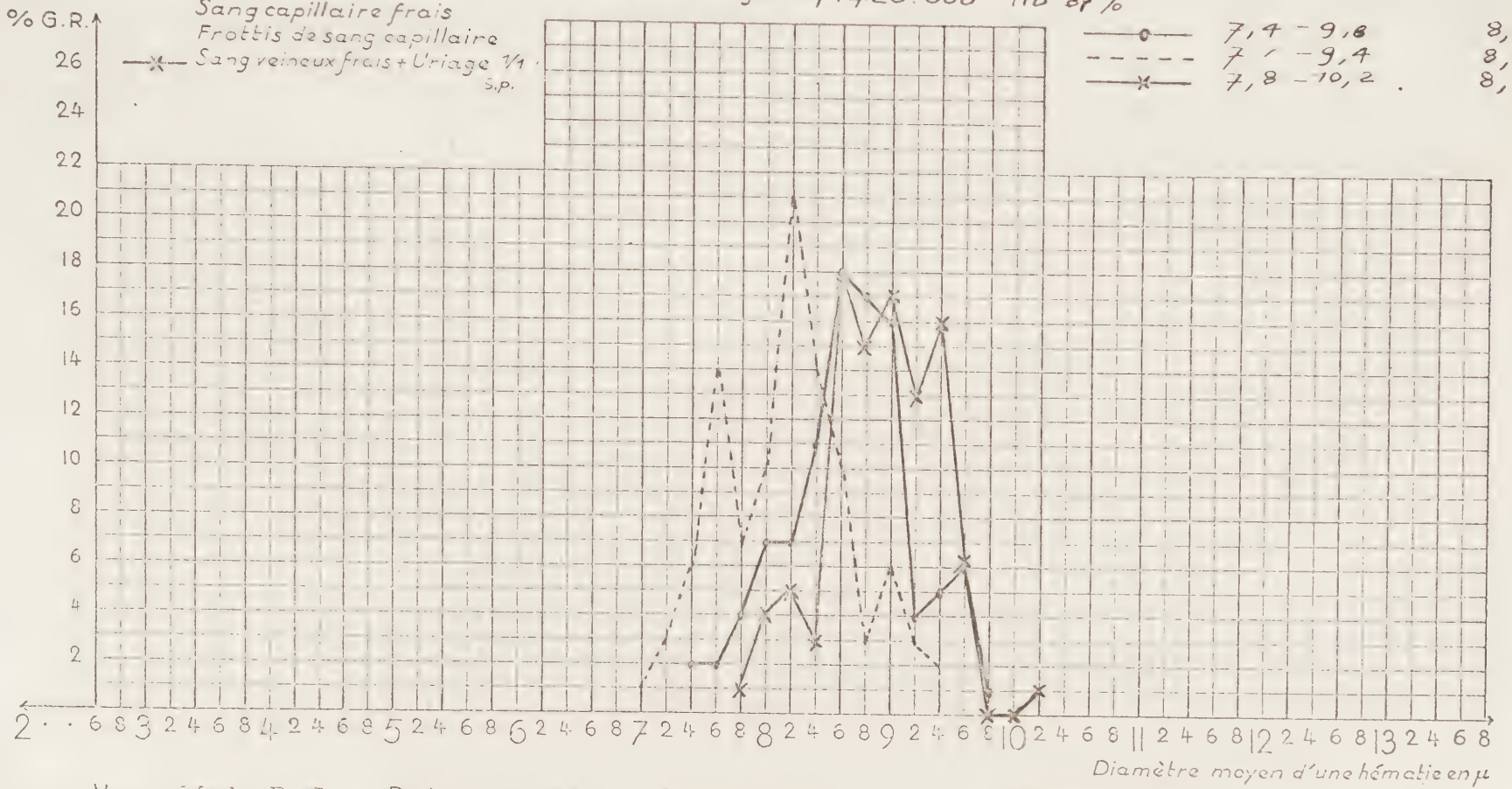
$Vm = 99 \mu^3$

Sang veineux frais : s.p.
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 s.p.

Hématocrite : < 44 – 44
Globules rouges : 4.420.000 Hb 87 %

Etalement des courbes et D. moyen %

—o—	7,4 – 9,8	8,63
- - - - -	7 – 9,4	8,14
—x—	7,8 – 10,2	8,90



Nom : Mad. B. G. Date : 5. 11. 54 Diagnostic : Observations :

N° 8

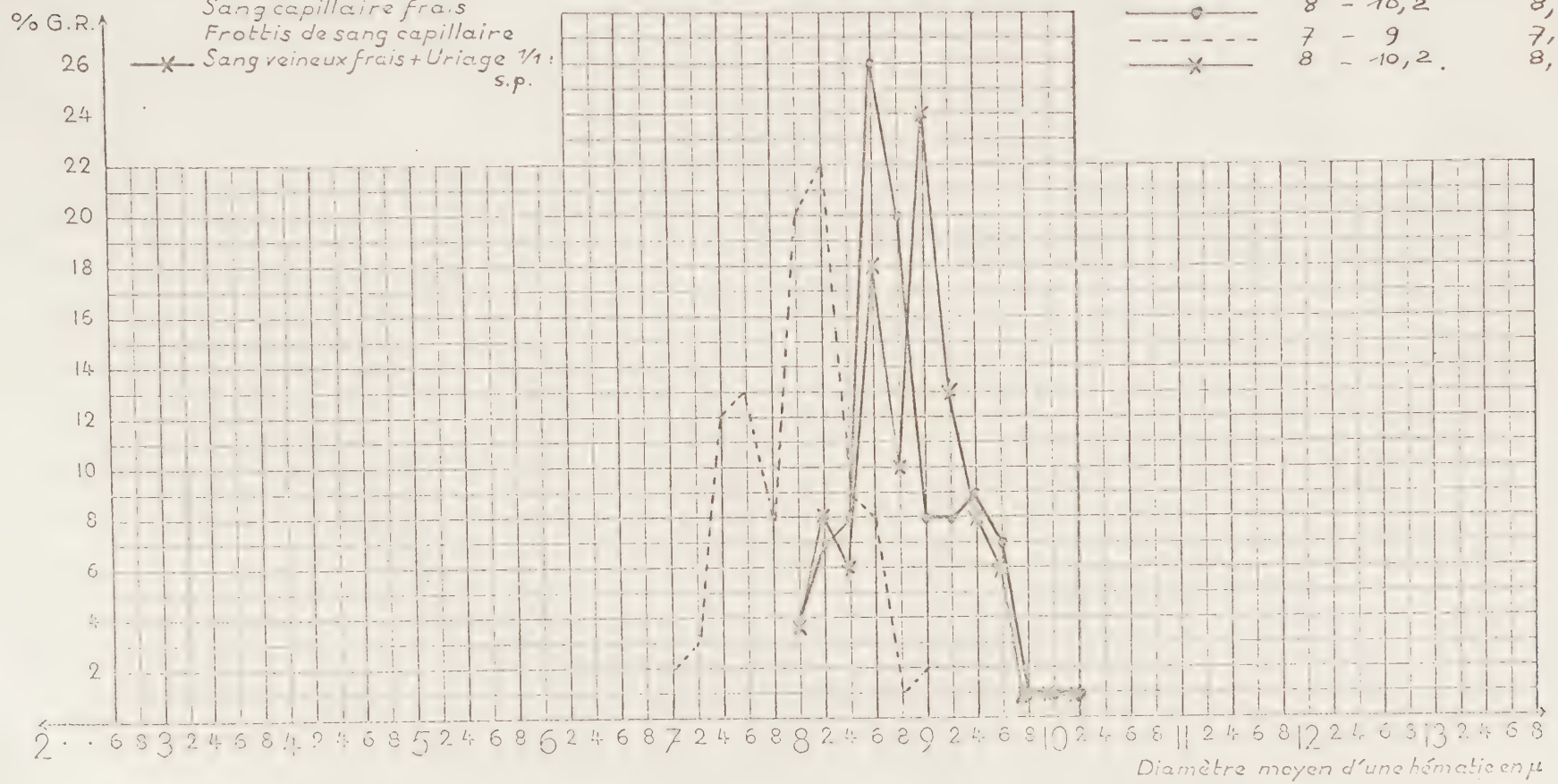
$V_m = 103\ \mu^3$

Sang veineux frais · A +1
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : < 49 % – 50
49 – 49 ½
Globules rouges : 4.800.000 Hb 93 %

Etalement des courbes et D. moyen %

——○——	8 – 10,2	8,81
- - - - - -	7 – 9	7,94
——×——	8 – 10,2	8,86



Nom : C. J. Date : 28.1.52 Diagnostic : Observations :

N° 9

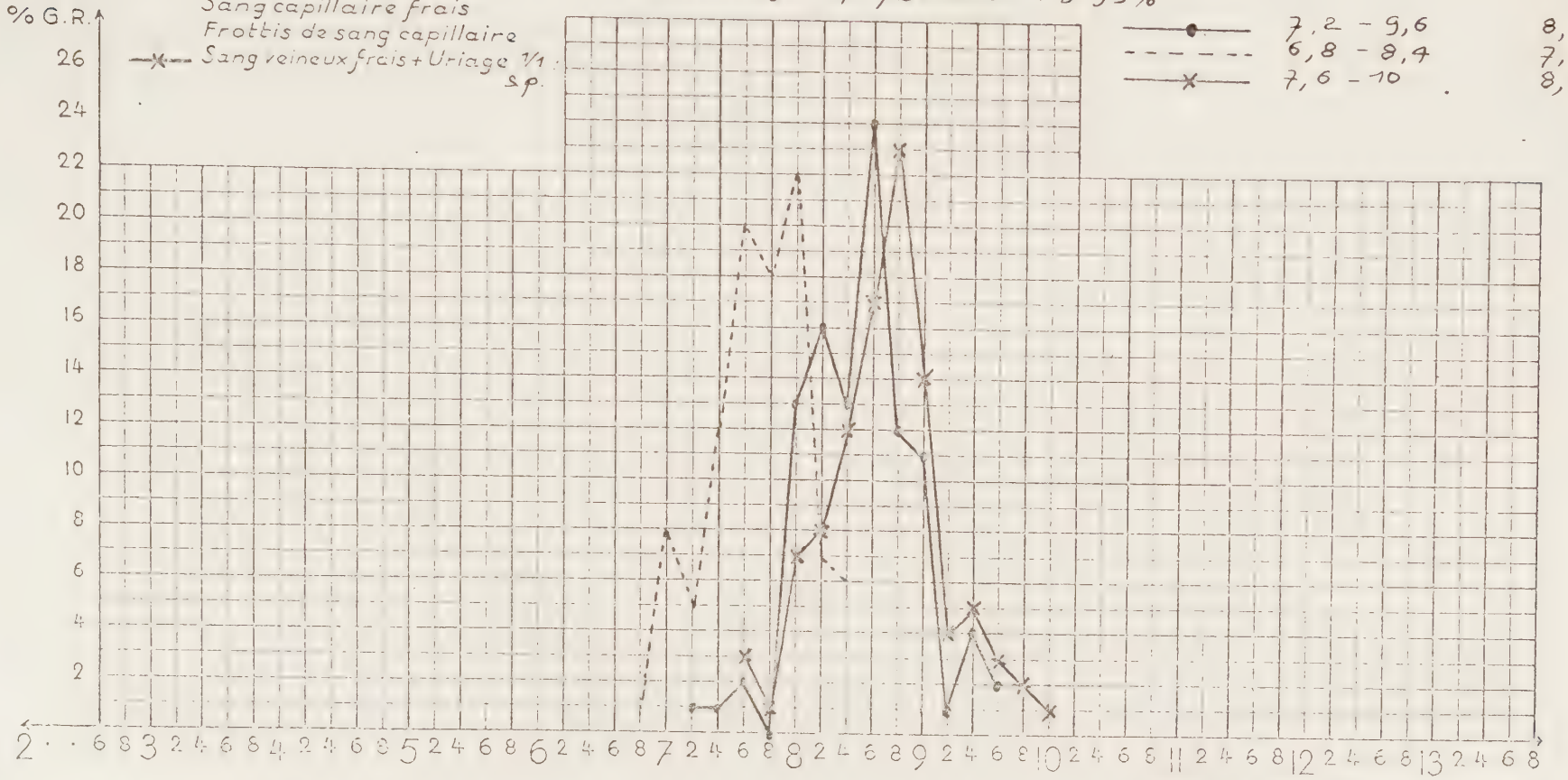
Vm = .103 μ^3

Sang veineux frais . A++ P+
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : sp.

Hématocrite : < 49 - 49
49 - 49
Globules rouges : 4.750.000 Hb 95 %

Etalement des courbes et D. moyen %

——●——	7,2 - 9,6	8,49
- - - - - -	6,8 - 8,4	7,68
——×——	7,6 - 10	8,67



Diamètre moyen d'une hématie en μ

Nom : Mad. H. P. Date : 13.10.5[illegible] Diagnostic : Observations :

N° 0

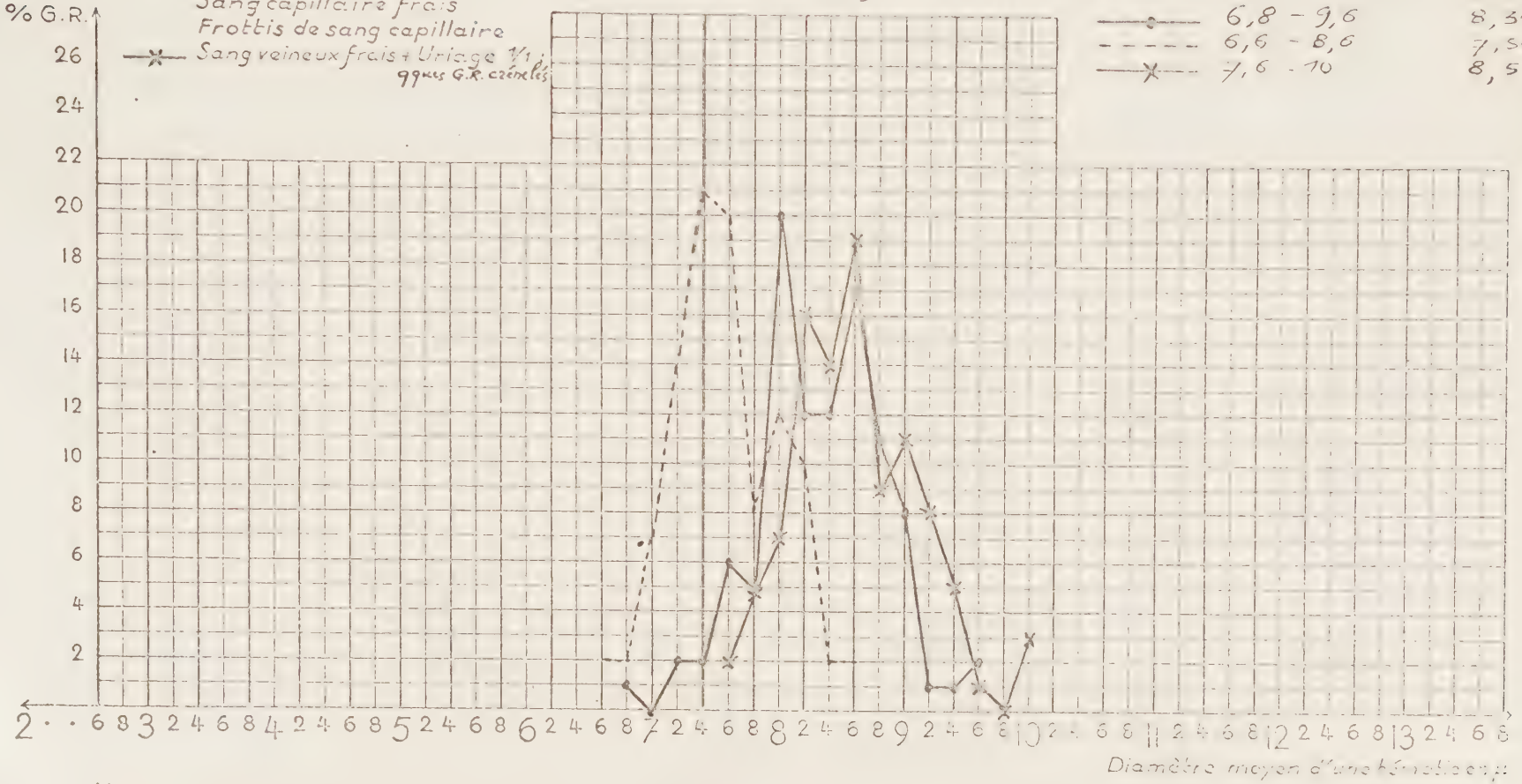
Vm = 106 μ^3

Sang veineux frais : P+ A++
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 ;
99 ‰ G.R. crénelés

Hématocrite : 49 - 49½ / 48½ - 49
Globules rouges : 4.590.000 Hb 92 %

Etalement des courbes : D. moyen %

—●—	6,8 - 9,6	8,3
- - - - -	6,6 - 8,6	7,5
—×—	7,6 - 10	8,57



Nom : Mad. Dr. L. Date : 5.10.54 Diagnostic : Observations :

Dans l'ensemble, les courbes gaussiennes montrent un décalage vers la gauche par détermination sur frottis. Les courbes faites sur sang frais ou sang frais avec eau d'Uriage se superposent ou sont légèrement décalées.

Les graduations portées sur nos graphiques ont été effectuées de 2/10 en 2/10 de microns, ceci pour faciliter la construction des courbes.

Ces graphiques nous permettent une précision de 1/10 de micron ; pour simplifier le tracé des courbes,nous avons assimilé les valeurs des diamètres érythrocytaires à la graduation la plus proche située dans l'intervalle de 0,2 micron : par exemple :

7.10 microns à 7.29 microns → 7.2
7.30 microns à 7.49 microns → 7.4
7.50 microns à 7.69 microns → 7.6
7.70 microns à 7.89 microns → 7.8
7.90 microns à 8.09 microns → 8 -

Tous ces résultats concernent le diamètre moyen d'hématies de sang veineux. Des études comparatives ont été faites avec du sang capillaire prélevé à la pulpe du doigt. Elles montrent un tracé de courbe qui suit sensiblement celui du sang veineux à quelques fractions de microns près.

En l'absence de préparation effectuée avec du sang veineux, nous avons utilisé des préparations de sang capillaire pour tracer les contours érythrocytaires. C'est le cas pour le n° 3 a pathologique.

Une étude sur sang veineux splénique frais a été effectuée pour le cas n° P 1b, lors d'une splénectomie.

Pour plus de précision, nous avons signalé la formation de piles et d'amas d'hématies désignés par les lettres A et P et la présence d'hématies crénelées et épineuses par les abréviations cr. et E.

En comparant les valeurs de Dm entre les tableaux I et II, nous constatons un écart minime entre les moyennes de ces deux séries normales. Ainsi donc, nous superposons les chiffres obtenus dans :

	DF		DFU		FS		Vm
la 1° série	8,64	≠ -0,18	8,73	≠ 0,09	7,91		101,6
la 2° série	8,46		8,64		7,84	≠ 0,07	98,2
TOTAL	17,10		17,37		15,75		199,8
Dm	8,55		8,68		7,87		99,9

La confrontation de ces résultats nous montre qu'en calculant la valeur du Dm sur 20 cas normaux, les écarts s'avèrent minimes par rapport aux moyennes obtenues sur la 1° série de 10 cas (Tableau I).

Nous inscrivons donc les valeurs moyennes de diamètres érythrocytaires.

	DF	DFU	FS
Dm pour 10 cas comparés à	8,64	8,73	7,91
Dm pour 20 cas	8,55	8,68	7,87
Ecart Δ	0,09	0,05	0,03
$\frac{\Delta m}{m}$ =	1,01 %	0,58 %	0,35 %.

Les différences de moyennes portant sur 10 et 20 cas normaux étudiés s'avèrent minimes et nous autorisent à utiliser les moyennes figurant au tableau I. Les limites inférieures et supérieures des différentes variantes de diamètre - à savoir DF, DFU et FS - restent inchangées, à l'exception des cas n° 1 chez lequel la présence de piles et d'amas en quantité moyenne a été signalée et le n° 6, qui a un DF de 8,12 microns au lieu d'un minimum de 8,16.

Discussion - Interprétation des données numériques.

1) Dans les cas normaux

- le diamètre frais (DF) varie de 8,16 à 9,33 microns (moyenne : 8,64 microns) ;
- le diamètre frais avec eau d'Uriage (DFU) varie de 8,40 à 9,33 microns (moyenne : 8,73 microns).
- le diamètre sec (DS) varie de 7,52 à 8,42 microns (moyenne : 7,91 microns).

L'écart DF et DFU est variable de 0 à 0,36 microns. Dans un cas les deux diamètres sont identiques. Dans 6 cas, le DFU est supérieur au DF. Dans 3 cas, le DFU est inférieur au DF.

Il est à noter que dans les cas normaux nous n'avons retenu que 10 cas types caractérisés par l'absence complète d'amas ou de piles (5 cas) ou dans lesquels ceux-ci étaient minimes, la grande majorité des hématies restant libres. Il n'y a pas de parallélisme entre la formation des amas et l'accroissement de la différence entre DF et DFU.

L'écart entre DF et DS varie de 0,48 à 1,07 micron .
L'écart entre DFU et DS varie de 0,44 et 1,13 micron .

TABLEAU III

CAS	Hémato-crite	Vol. globul. moyen	Sang frais			Sg frais + Uriage		Frottis DS	DF - DFU	DF - DS	DFU - DS	Diagnostic
			Amas	Crénel. épines	DF		DFU					
1 SCH...												Anémie hémolytique congénitale
a 17.1.53	37,5	95			7,73			7,23		+ 0,50		
b 26.1.53	58,5	112,5			7,35			6,68		+ 0,67		Après splénectomie
c 26.2.53	45,5	100	+++		7,93		8,29	7,26	- 0,36	+ 0,77	+ 1,03	
d 24.3.53	52	98		+++	8,09		8,41	7,29	- 0,32	+ 0,80	+ 1,12	
e 16.4.53	49	90			7,91		7,83	7,27	+ 0,08	+ 0,64	+ 0,56	
2 LEN... 19.5.53	68	97			8,86		8,87	8,01	- 0,01	+ 0,85	+ 0,86	Polyglobulie
3 Mad. L... a 12.2.53	37	100			8,36		8,62	7,81	- 0,26	+ 0,55	+ 0,81	Hodgkin
b 27.3.53	37,5	103			8,23		8,44	7,75	- 0,21	+ 0,48	+ 0,69	Id.
c 28.4.53	55,5	107			8,55	Crénel.+	8,64	8,28	- 0,09	+ 0,27	+ 0,36	Id.après transfus.1500 cc GR
4 L...	11	105			9,05		9,02	7,83	+ 0,03	+ 1,22	+ 1,19	Panmyélophtisie
5 B...												Splénomégalie érythroblastique chron.
a 18.9.53	28,5	104			7,91		7,51	6,72	+ 0,40	+ 1,19	+ 0,79	
b 7.1.54	27,5	108	+		7,95		8,08	7	- 0,13	+ 0,95	+ 1,08	id.
6 Mad. LE...	38	109			9,12		9,35	8,19	- 0,23	+ 0,93	+ 1,16	Splénomégalie hémolytique
7 J...	36	114			9,30		9,24	8,37	+ 0,06	+ 0,93	+ 0,87	Anémie après radiothérapie
8 LO...	55	127			9,50	Crénel.+	9,58	8,19	- 0,08	+ 1,31	+ 1,39	Maladie de Gaucher
9 H...	41	129			8,69		8,89	8,22	- 0,30	+ 0,47	+ 0,67	Hématome périsplénique
10 Mad. D...	37	135	+		8,45		8,82	7,65	- 0,37	+ 0,80	+ 1,17	Syndrome hémorragique chron.

$V_m = 95\ \mu^3$

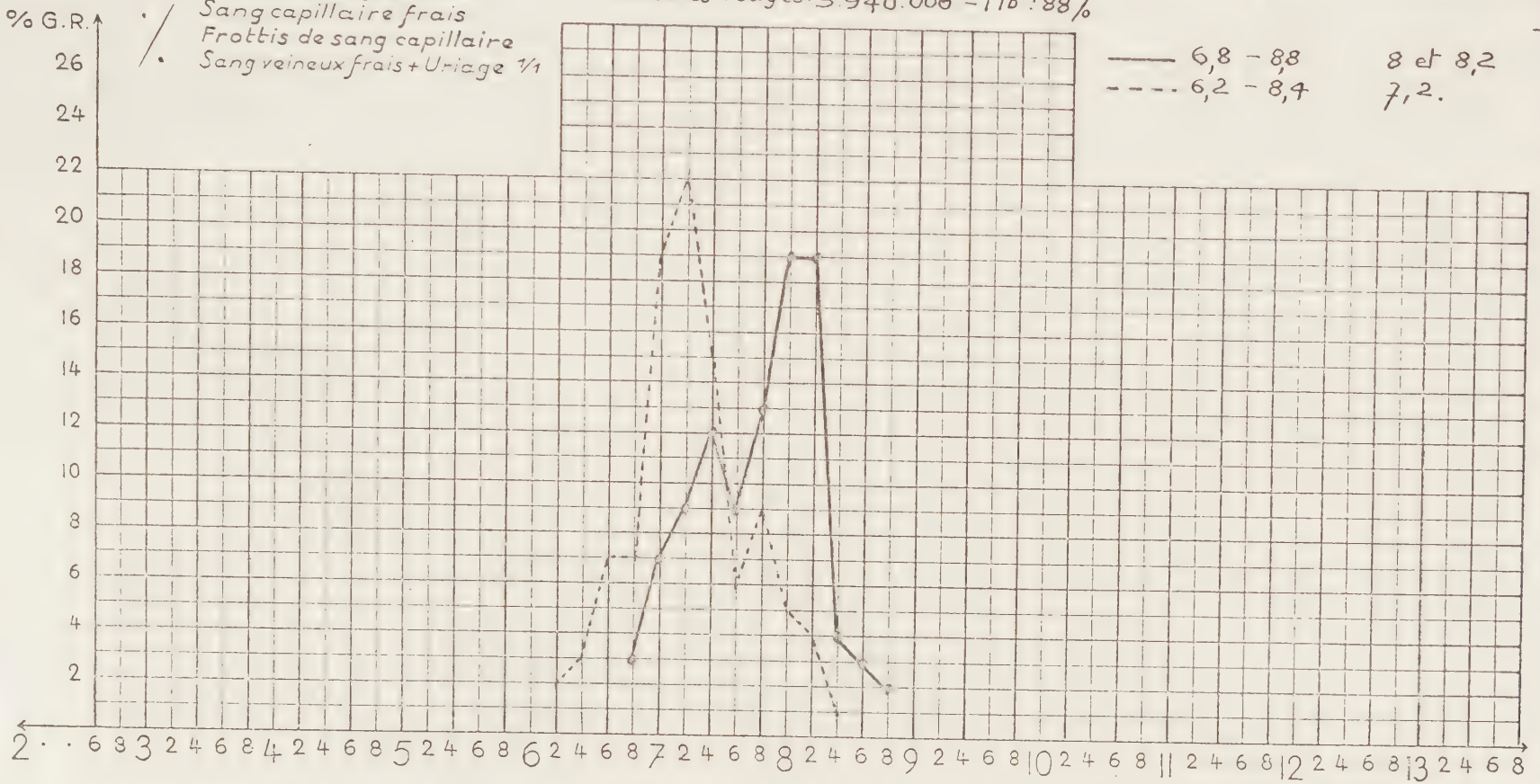
P la

Sang veineux frais
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1

Hématocrite : < 38 - 38 / 37½ - 37½
Globules rouges : 3.940.000 - Hb : 88%

Etalement des courbes et Maxima, D. moyen sur 100

——	6,8 - 8,8	8 et 8,2	7,73
- - - -	6,2 - 8,4	7,2.	7,23



Nom: Sch. E. Date: 17.1.53 Diagnostic: Anémie hémolytique congénitale. Observations: Avant splénectomie.

$V_m = 112,5 \mu^3$

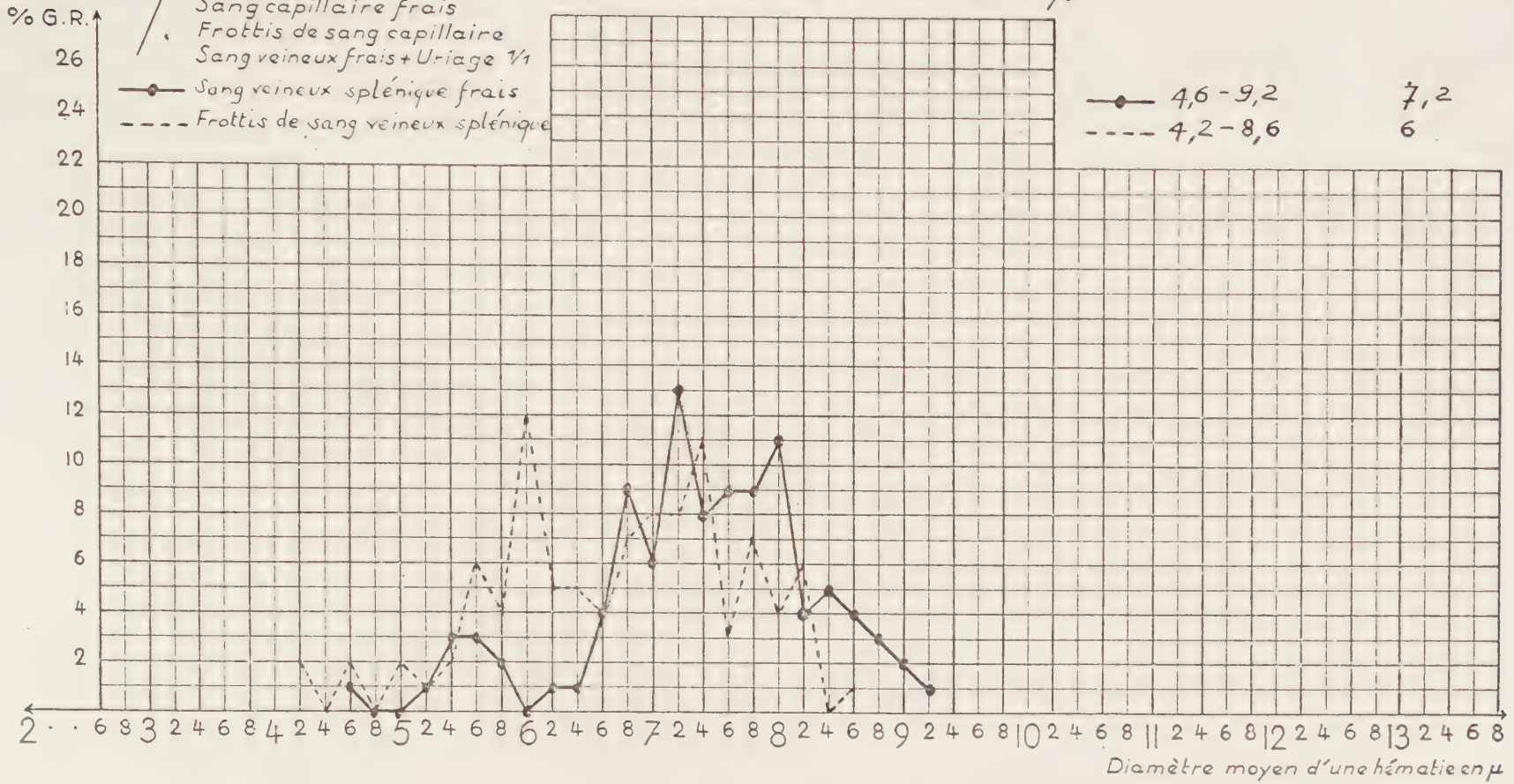
P 1b

Sang veineux frais
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage V1
Sang veineux splénique frais
Frottis de sang veineux splénique

Hématocrite : $<\frac{59}{58}$
Globules rouges : 5.200.000 - Hb. 111 %

Etalement des courbes et Maxima, D. moyen sur 100

—●—	4,6 - 9,2	7,2	7,35
----	4,2 - 8,6	6	6,68



Nom : Sch. E. Date : 26.1.53 Diagnostic : Anémie hémolytique congénitale

Observations : Sang prélevé sur rate fraîch pesant 1032 g et après écouleme du sang 700 g
Anisocytose considérable

P 1c

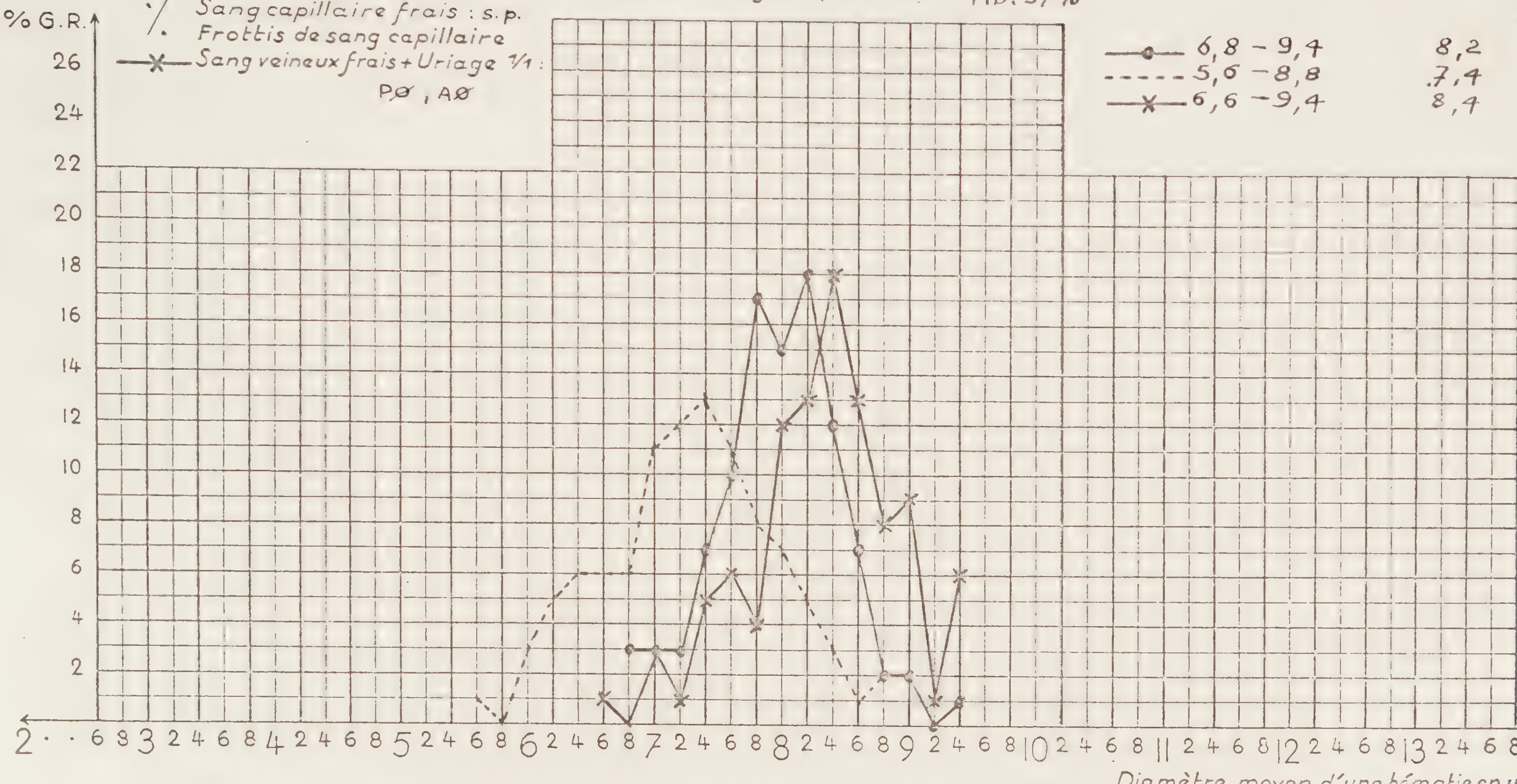
$V_m = 100 \mu^3$

Hématocrite : < 45 – 45½ / " "

Globules rouges : 4.510.000 – Hb : 97 %

—o— Sang veineux frais : P+++
- - - - Frottis de sang veineux
'/. Sang capillaire frais : s.p.
Frottis de sang capillaire
—x— Sang veineux frais + Uriage 1/1 : PØ, AØ

	Etalement des courbes et Maxima		D. moyen sur 100
—o—	6,8 – 9,4	8,2	7,93
- - - -	5,6 – 8,8	7,4	7,26
—x—	6,6 – 9,4	8,4	8,29



Nom: Sch. E. Date: 26. 2. 53 Diagnostic: Anémie hémolytique congénitale. Observations: Un mois après splénectomie.

P 1d

$Vm = 98 \mu^3$

—o— Sang veineux frais : P.A=0 - Hcr.+++ Hématocrite : $< \frac{52 - 52\frac{1}{2}}{51\frac{1}{2} - 52}$

---- Frottis de sang veineux

Globules rouges : 5.260.000 – Hb : 105 %

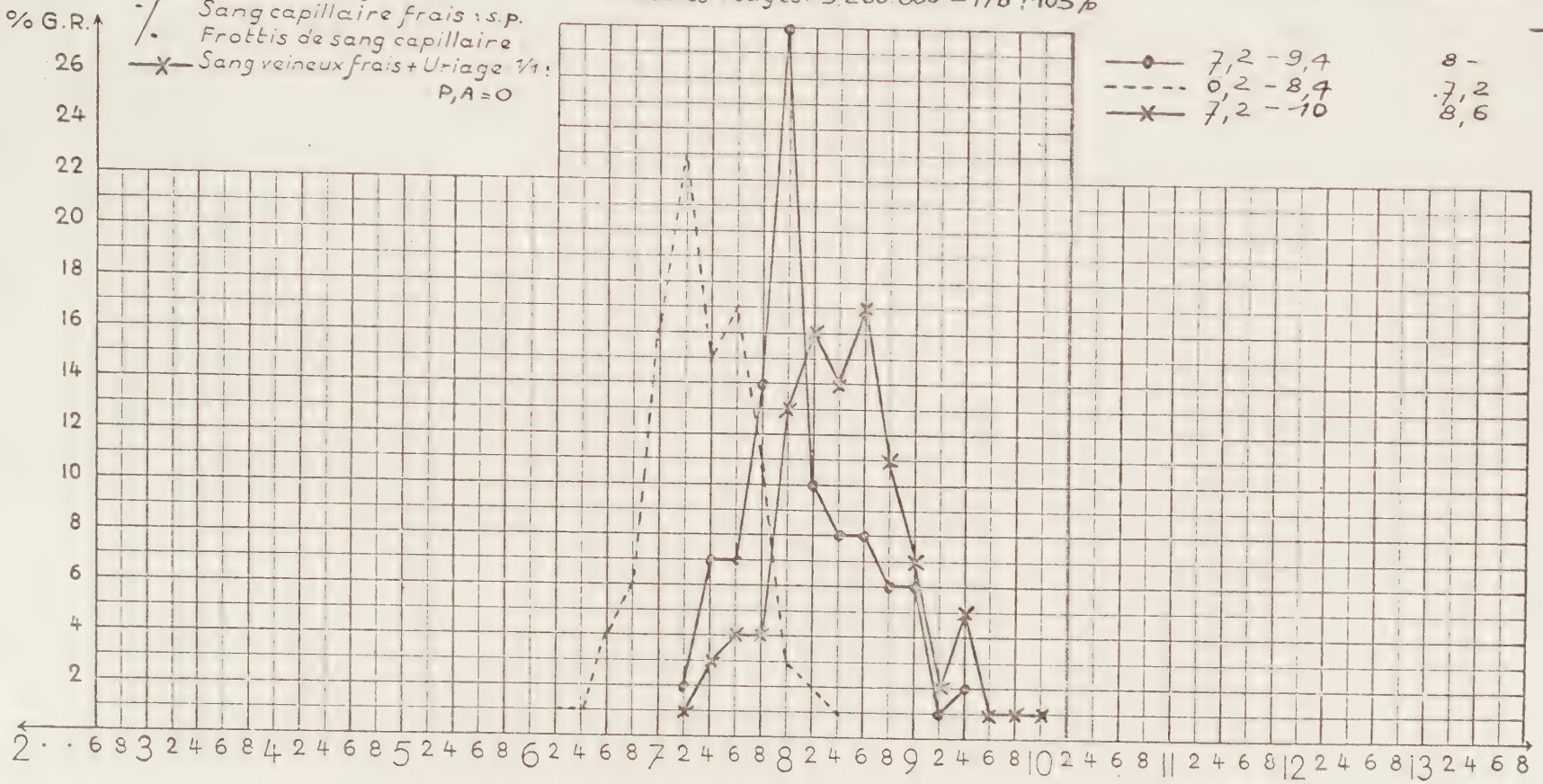
Sang capillaire frais : s.p.

Frottis de sang capillaire

—x— Sang veineux frais + Uriage 1/1 : P.A=0

Etalement des courbes et Maxima, D. moyen sur 100

—o—	7,2 - 9,4	8 -	8,09
----	0,2 - 8,4	7,2	7,29
—x—	7,2 - 10	8,6	8,41



Nom : Sch. E. Date : 24. 3. 53 Diagnostic : Anémie hémolytique congénitale Observations : Deux mois environ après splenectomie.

$V_m = 90\mu^3$

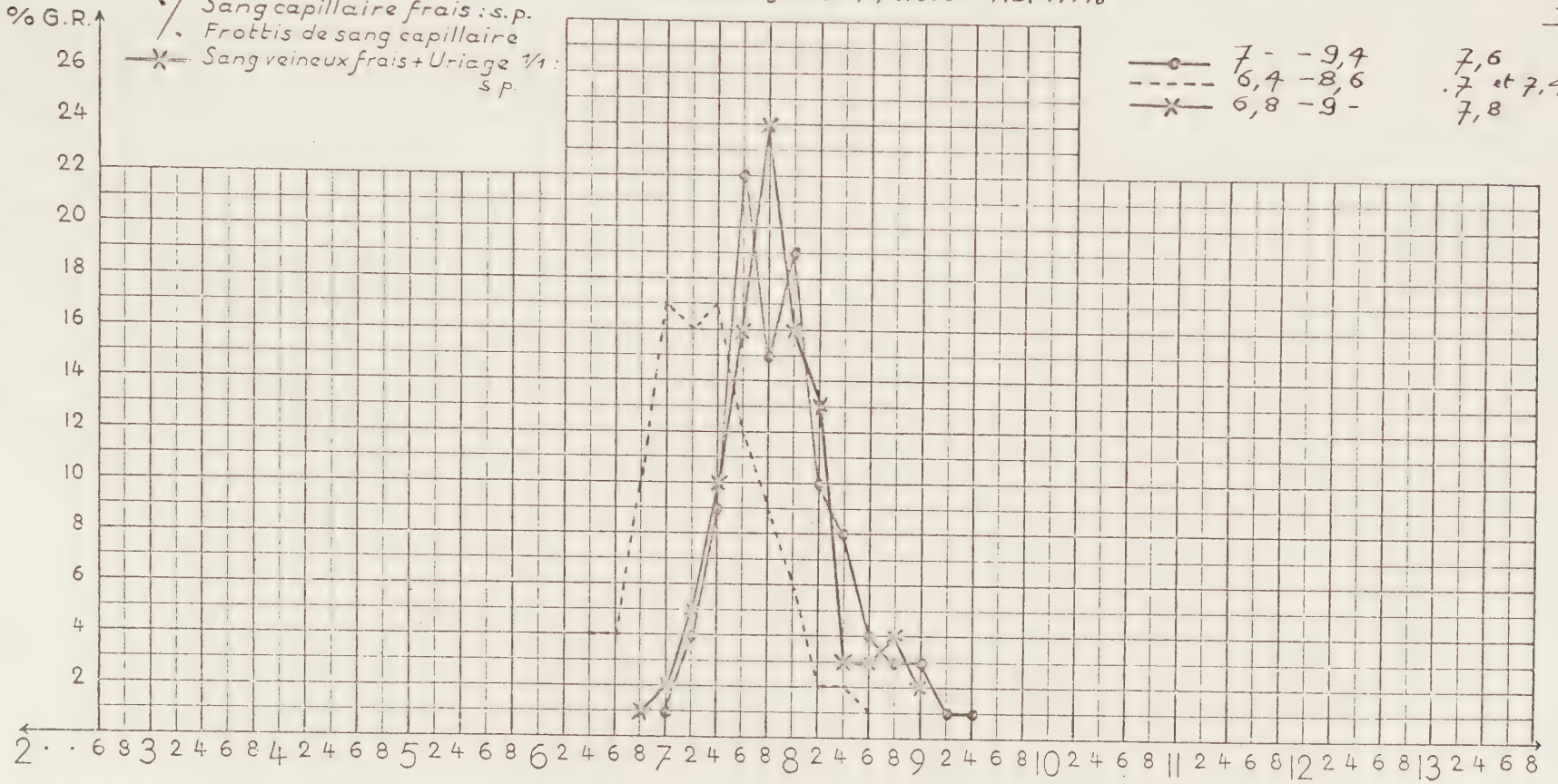
P 1e

Sang veineux frais : s.p.
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais : s.p.
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : $< \frac{49-50}{48-49}$
Globules rouges : 5.440.000 – Hb : 111 %

Etalement des courbes et Maxima, D. moyen sur 100

——o——	7 - - 9,4	7,6	7,91
- - - - -	6,4 - 8,6	7 et 7,4	7,27
——x——	6,8 - 9 -	7,8	7,83



Nom : Sch. E. Date : 16. 4. 53 Diagnostic : Anémie hémolytique congénitale Observations : Après opération.

$V_m = 97\ \mu^3$

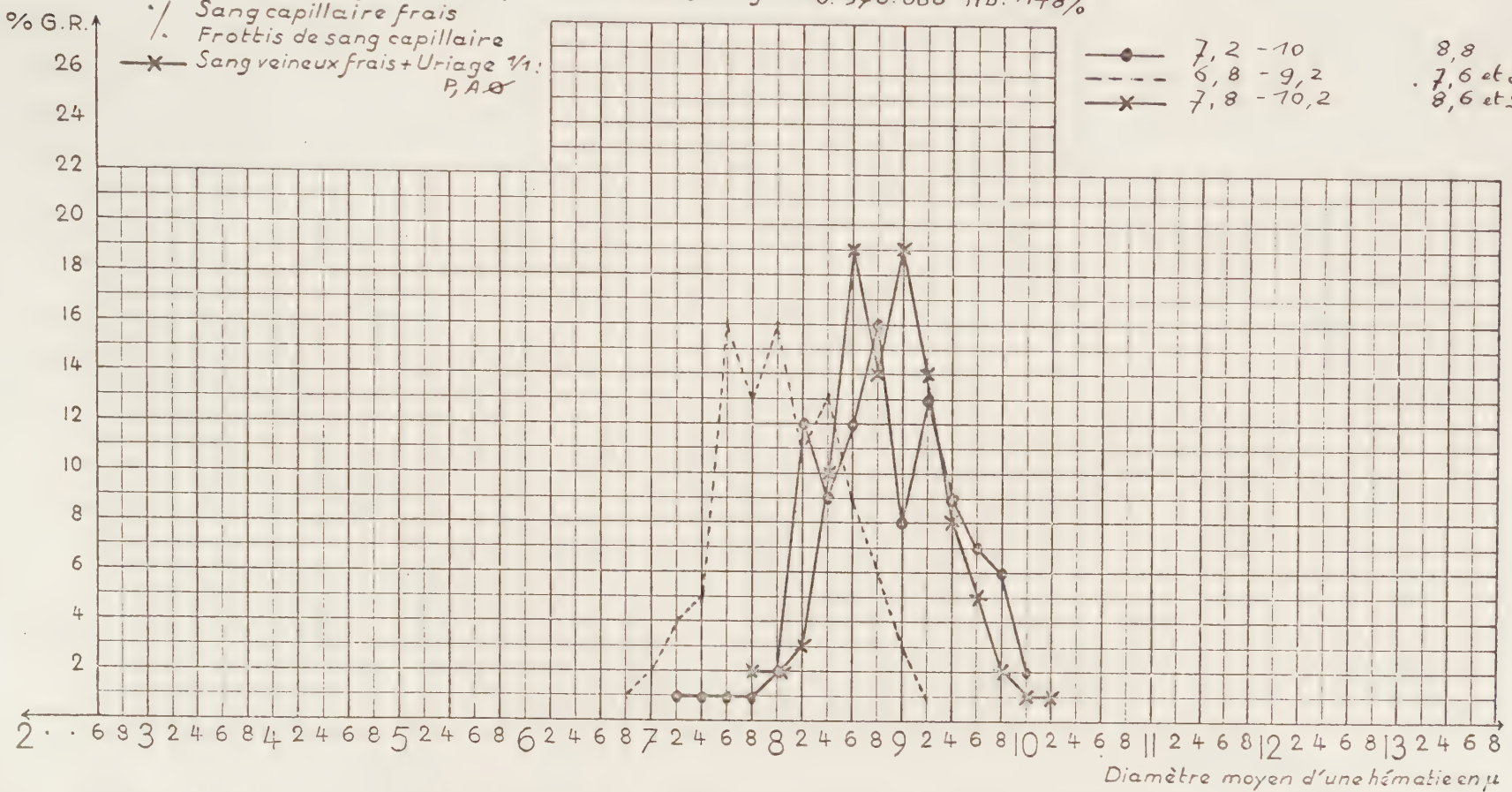
P 2

Sang veineux frais ; s.p.
Frottis de sang veineux ; s.p.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : P, A Ø

Hématocrite : < 68½ - 69 / 67 - 67½
Globules rouges : 6.970.080 Hb. 148 %

Etalement des courbes et Maxima, D. moyen sur 100

—●—	7,2 - 10	8,8	8,86
- - - -	6,8 - 9,2	7,6 et 8	8,01
—×—	7,8 - 10,2	8,6 et 9	8,87



Nom : L. H. Date : 19. 5. 53 Diagnostic : Polyglobulie. Observations : Avant traitement au Radiophosphore.

V_m = 100 μ^3

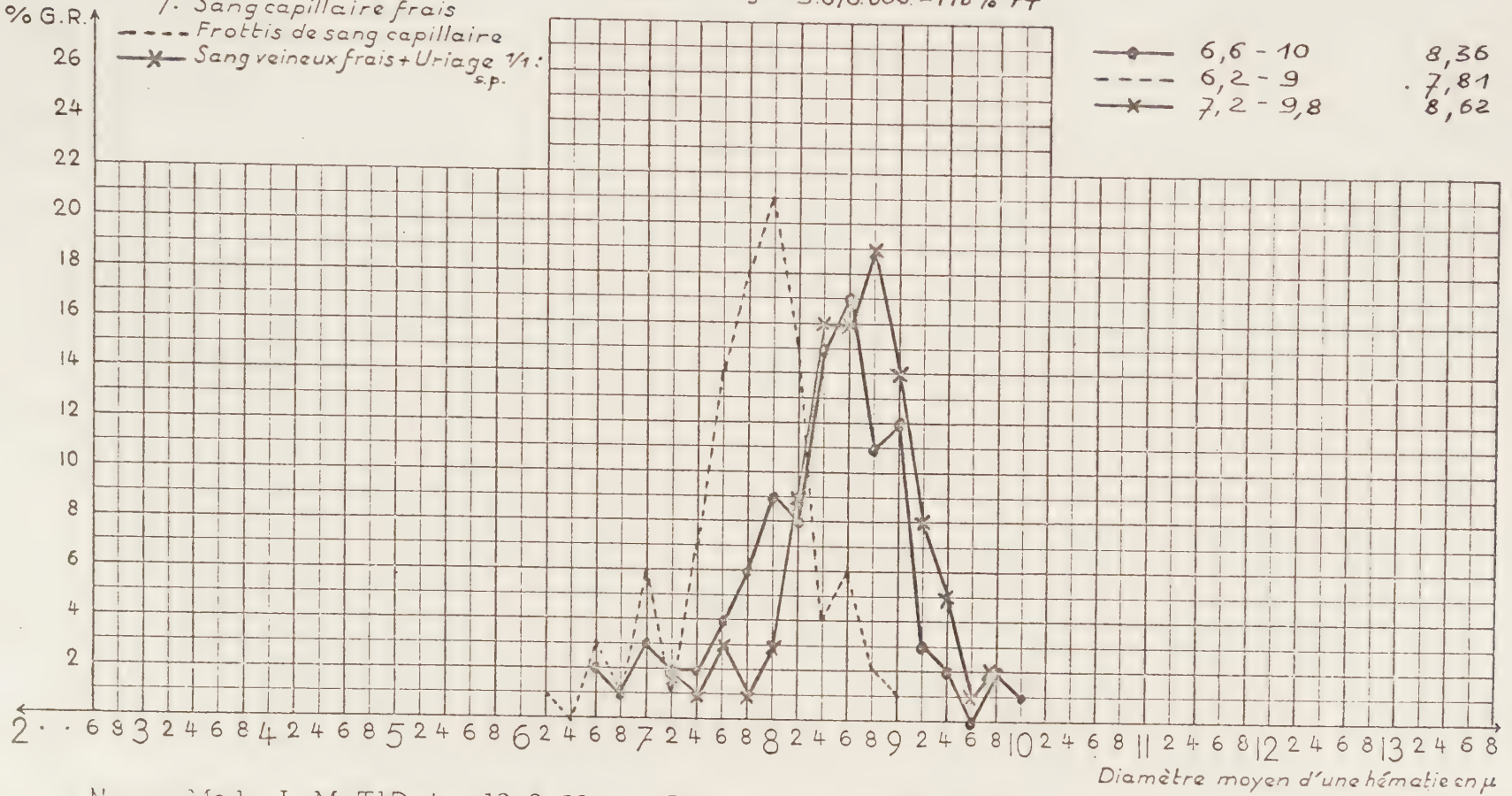
P 3a

Sang veineux frais : s.p.
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : $< \frac{37-37}{36\frac{1}{2}-36\frac{1}{2}}$
Globules rouges : 3.670.000 - Hb % 74

Etalement des courbes et D. moyen %

6,6 - 10		8,36
6,2 - 9		7,81
7,2 - 9,8		8,62



Nom : Mad. L. M. Th Date : 12. 2. 53 Diagnostic : Hodgkin Observations : Avant transfusion (G.R. + plasma) 1/2 flacon.

$V_m = 103\ \mu^3$

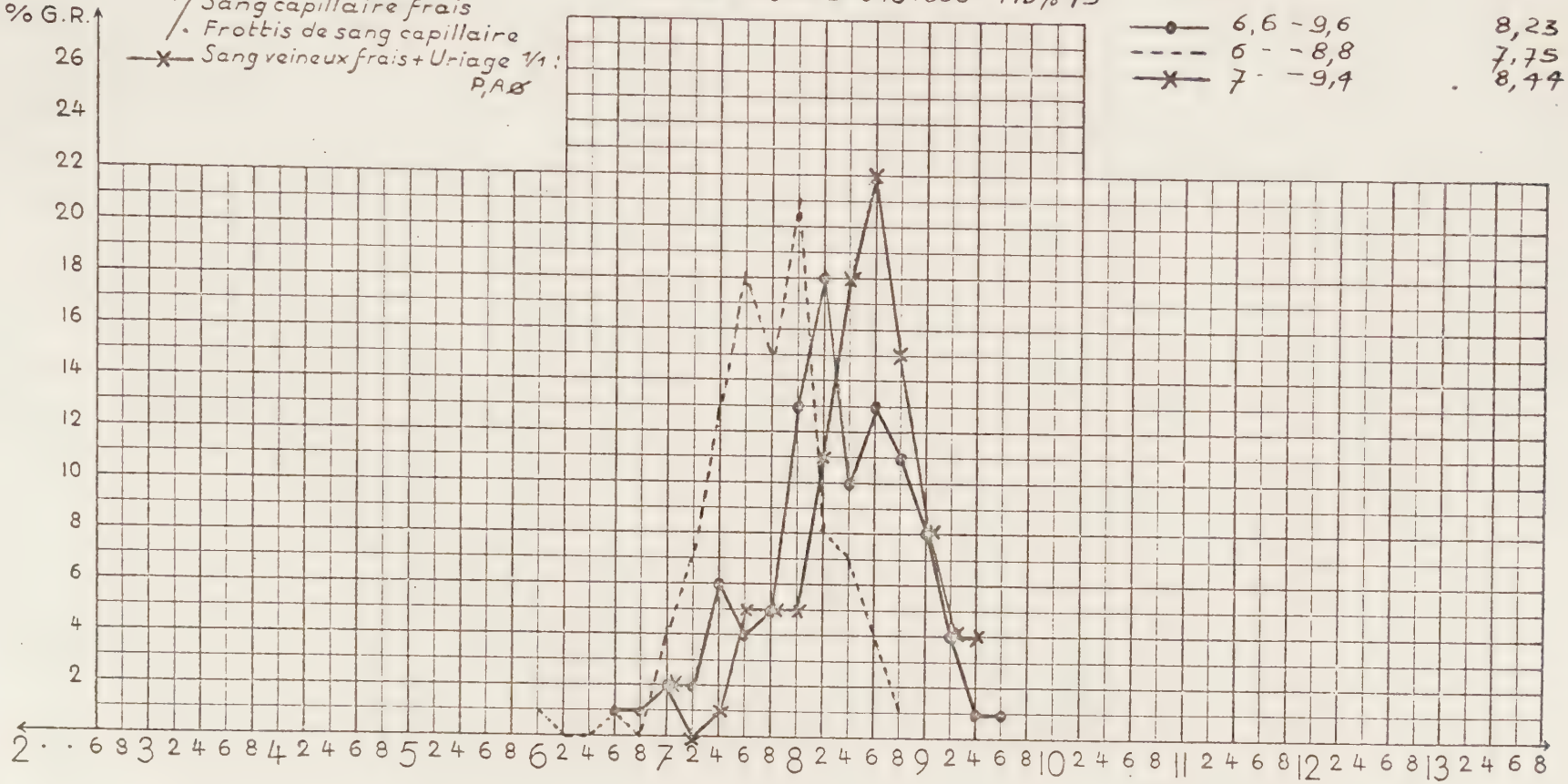
P 3b

Sang veineux frais : A, P ∅
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : P, A ∅

Hématocrite : < 37½ - 37½ / 37 - 37
Globules rouges : 3.610.000 – Hb % 75

Etalement des courbes et D. moyen %

6,6 - 9,6		8,23
6 - 8,8		7,75
7 - 9,4		8,44



Nom : Mad. L. M. Th Date : 27. 3. 53 Diagnostic : Hodgkin Observations : Pas de transfusion.

$V_m = 107\ \mu^3$

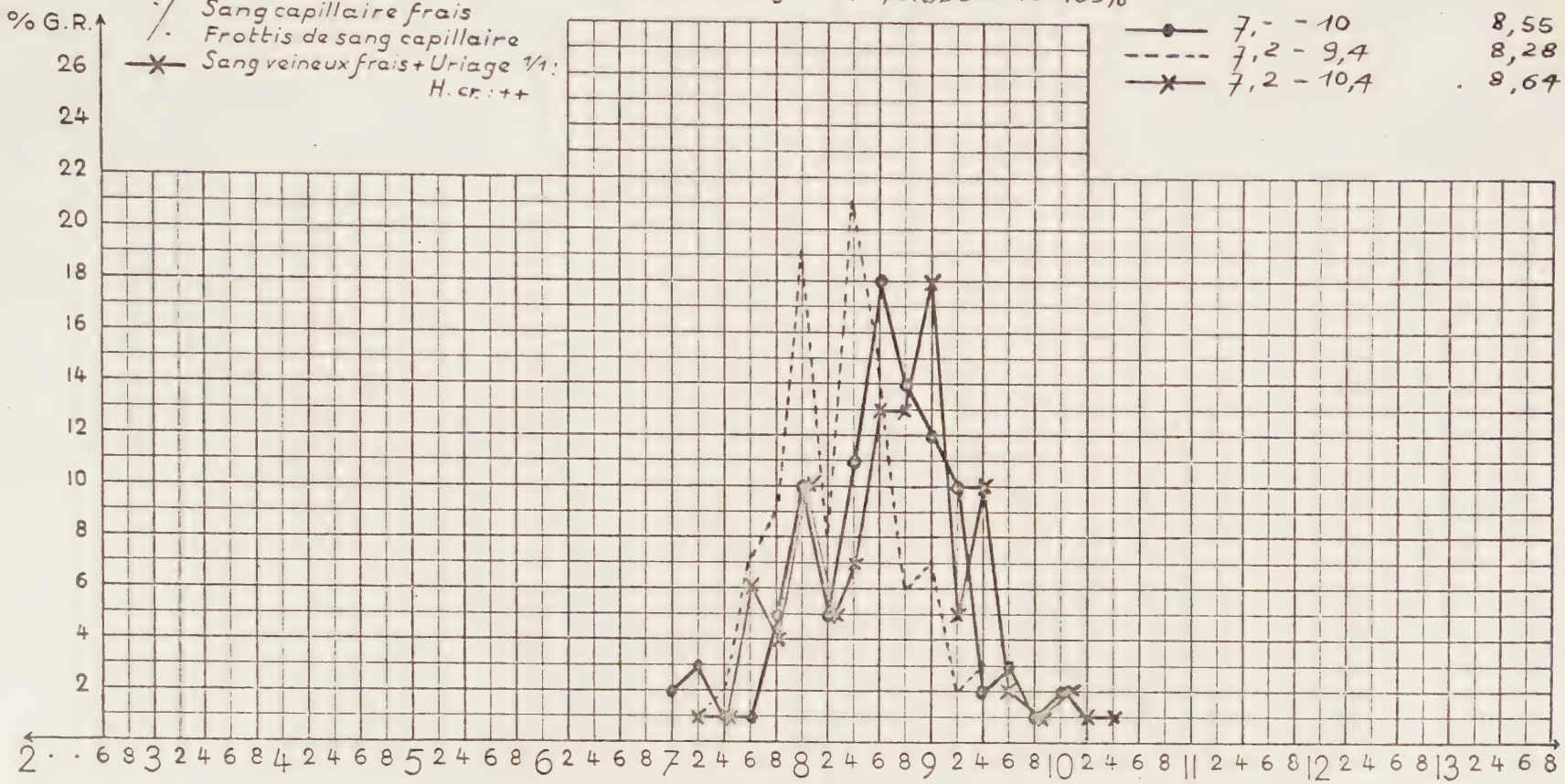
P 3c

Sang veineux frais : A, P ∅
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : H. cr. : ++

Hématocrite : < 55 ½ - 55 ½ / 55 ½ - 55
Globules rouges : S. 140.000 - Hb 105 %

Etalement des courbes et D moyen %

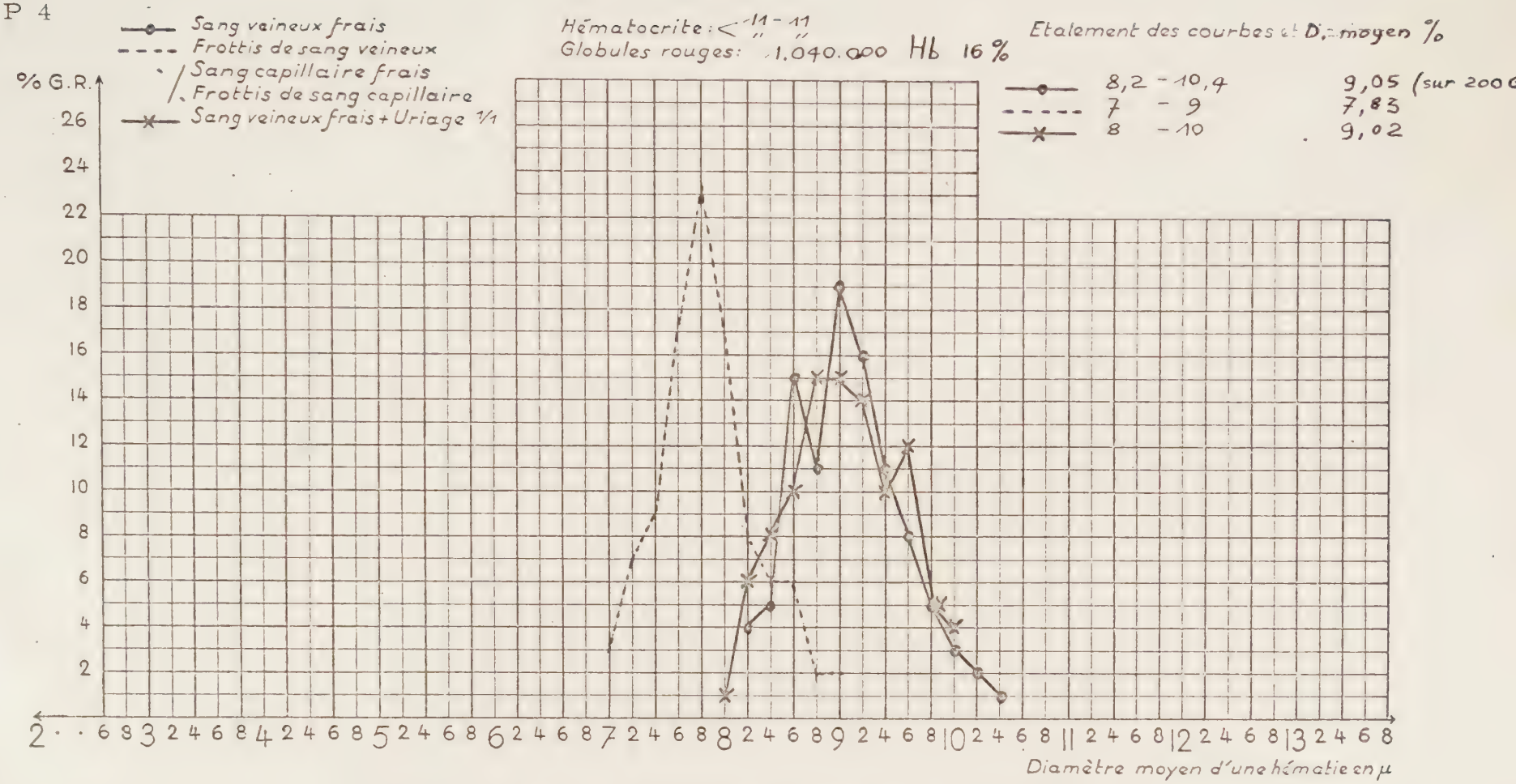
——●——	7,- - 10	8,55
- - - - -	7,2 - 9,4	8,28
——×——	7,2 - 10,4	8,64



Nom : Mad. L. M. Th Date : 28. 4. 53 Diagnostic : Hodgkin Observations : A reçu les 23, 24 et 25 courant chaque fois 500 g. G. R.

$V_m = 105\ \mu^3$

P 4



Nom: L. Date: 3. 6. 54 Diagnostic: Panmyélophtysie. Observations: Sang pris après transfusion.

P 5a

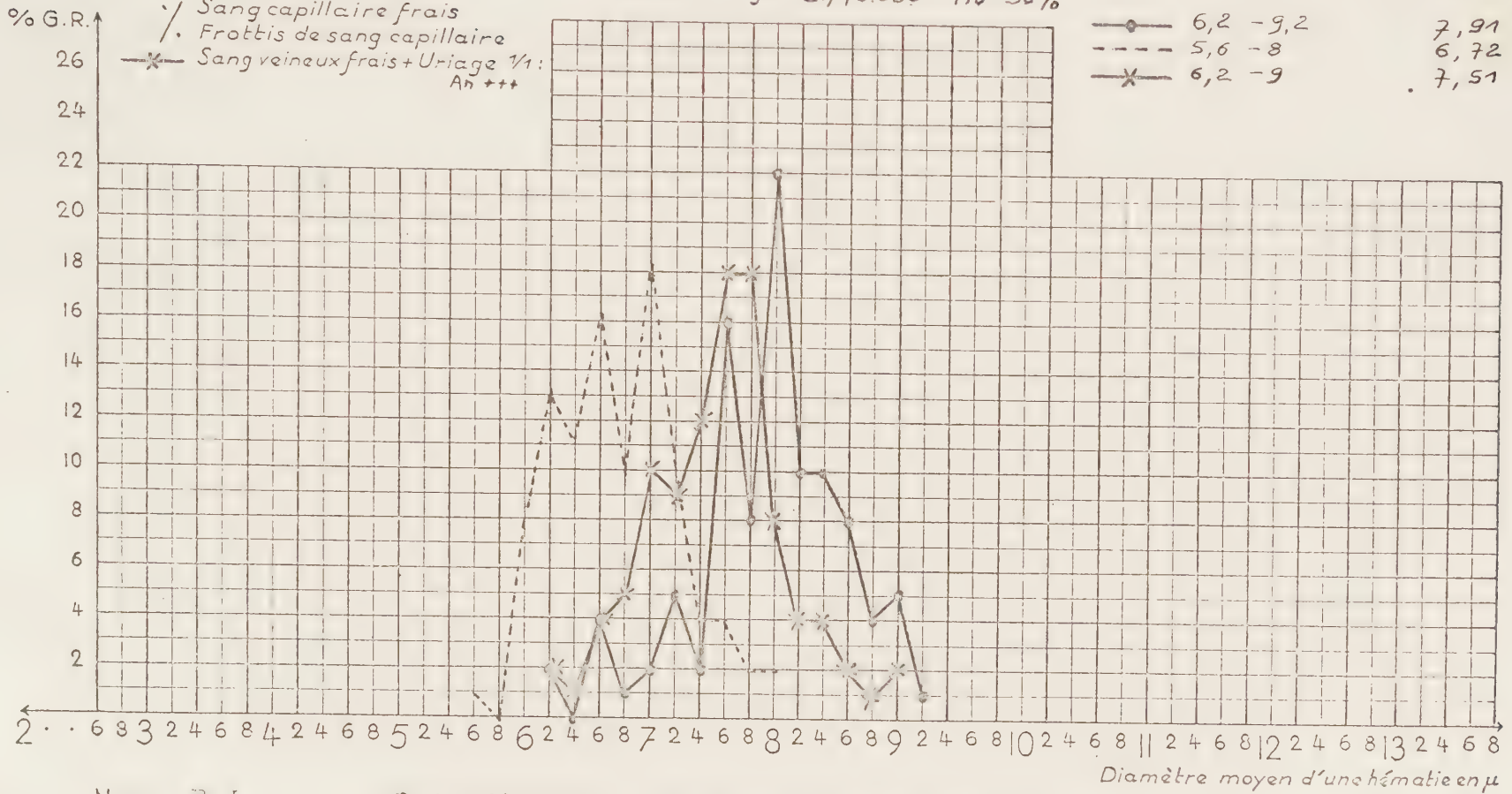
V_m = 104

Sang veineux frais An +++
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : An +++

Hématocrite : $< \frac{28\frac{1}{2} - 29}{28 - 28\frac{1}{2}}$
Globules rouges : 2.740.000 Hb 56 %

Etalement des courbes et D. moyen %

——o——	6,2 - 9,2	7,91
- - - -	5,6 - 8	6,72
——x——	6,2 - 9	7,51



Nom : B. L.

Date : 18. 9. 53

Diagnostic : Splénomégalie érythroblastique chronique.

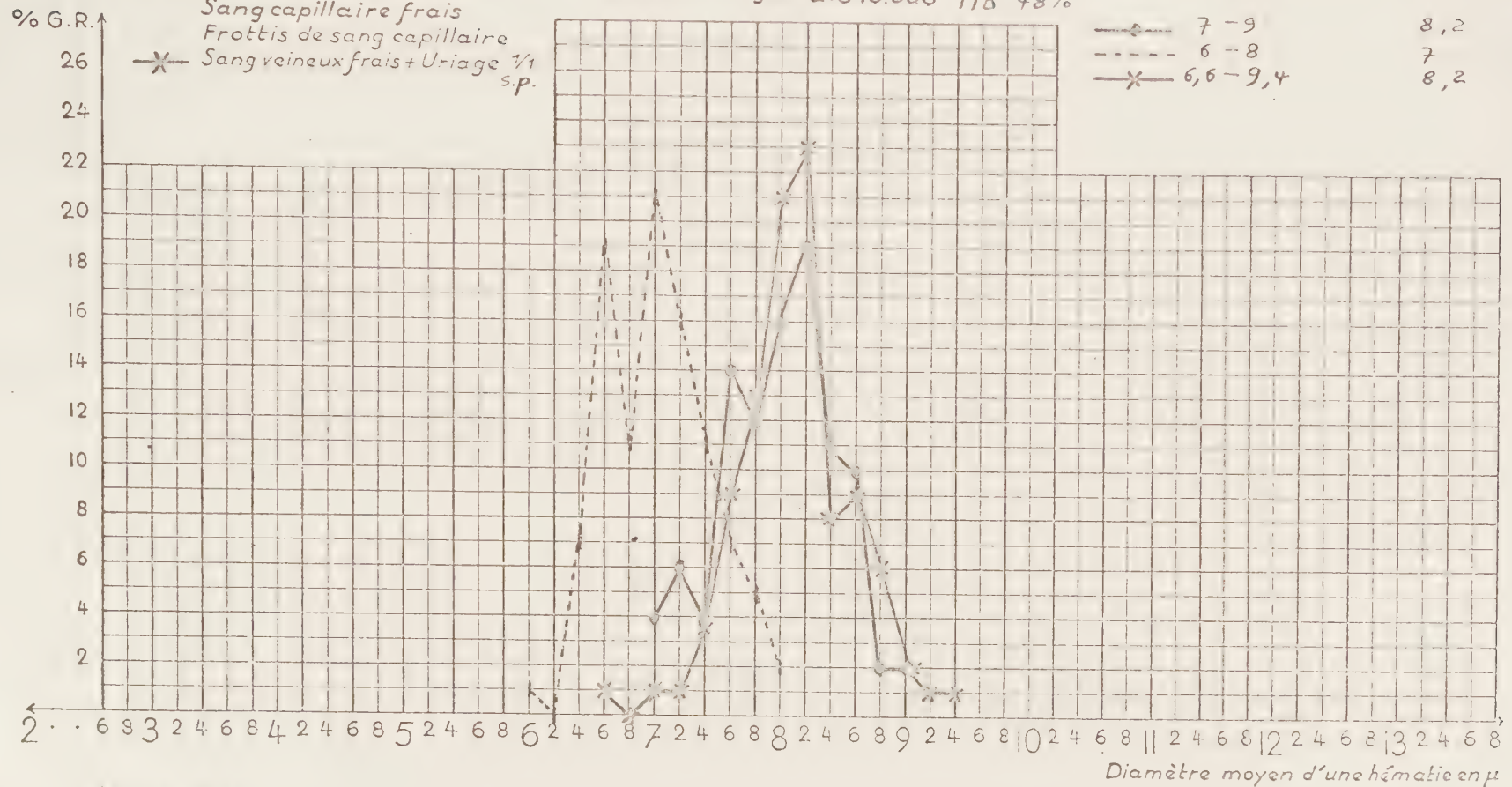
Observations. Anisocytose très prononcée, d'emblée (goutte d'eau +).

P 5b

$V_m = 108\ \mu^3$

Hématocrite : $\frac{27\frac{1}{2} - 27\frac{1}{2}}{27 - 27}$

Globules rouges : 2.510.000 Hb 48%



Etalement des courbes et Maxima, D. moyen

7 – 9	8,2	7,95
6 – 8	7	7,00
6,6 – 9,4	8,2	8,08

Nom : B. L.

Date : 7.1.54

Diagnostic : Splénomégalie érythroblastique

Observations : On note une anisocytose ++(+) d'emblée sur sang frais.

P 6

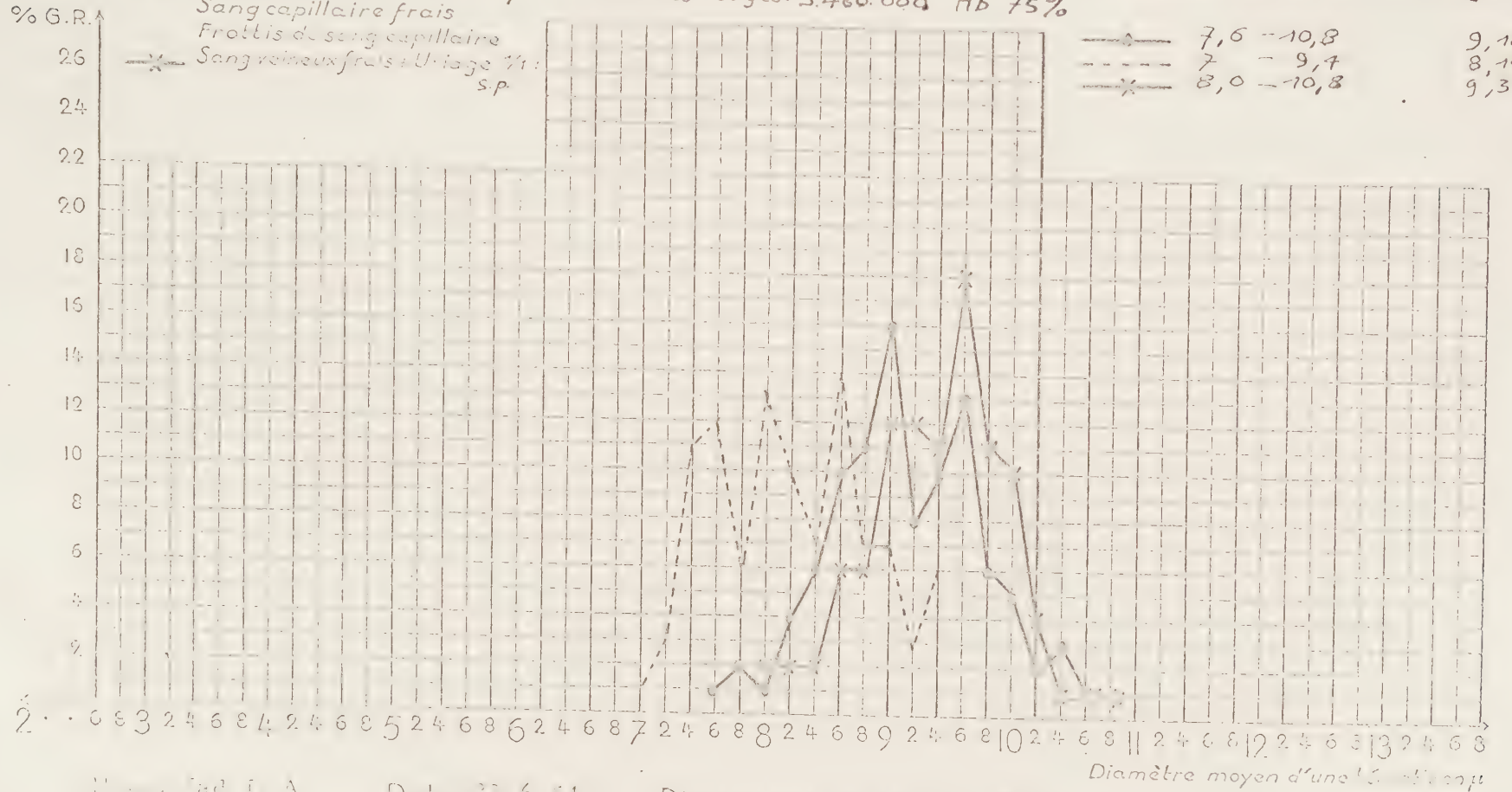
$Vm = 109 \mu^3$

Sang veineux frais : s.p.
Frottis de sang veineux : s.p.
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais : Uriage 1/1 : s.p.

Hématocrite : 38 – 38
Globules rouges : 3.480.000 Hb 75%

Etalement des courbes et D. moyen %

—△—	7,6 – 10,8	9,12
- - - -	7 – 9,7	8,19
—✕—	8,0 – 10,8	9,35



Nom : Fad. [illegible] A. Date : 23. 6. 51 Diagnostic : Splénomégalie hémolytique. Observations : Avant splénectomie.

P 7

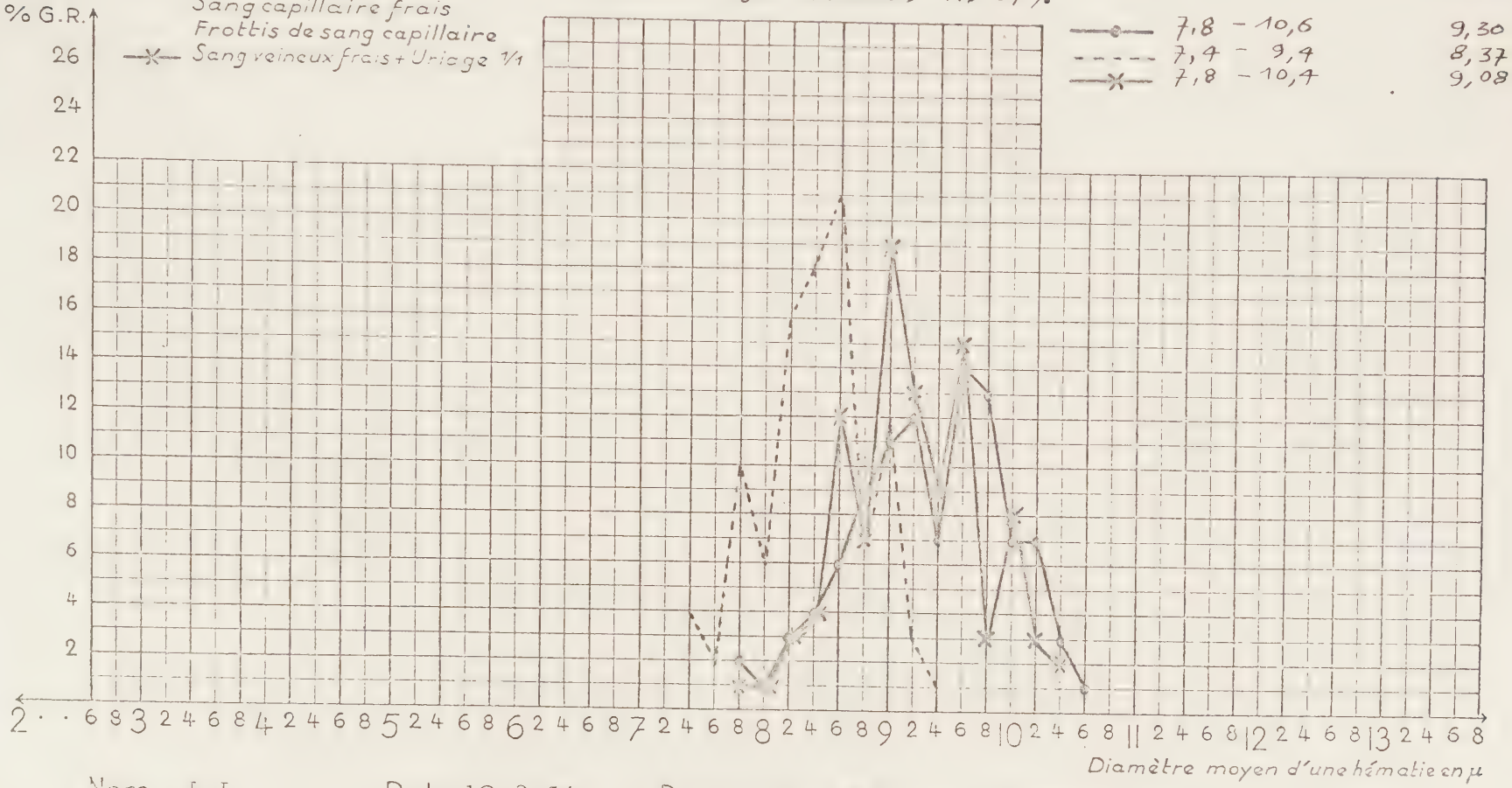
$Vm = 114\ \mu^3$

Hématocrite : 36 - 36
Globules rouges : 3.150 000 Hb 67 %

Sang veineux frais
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1

Etalement des courbes et D. moyen %

Sang veineux frais	7,8 – 10,6	9,30
Frottis de sang veineux	7,4 – 9,4	8,37
Sang veineux frais + Uriage 1/1	7,8 – 10,4	9,08



Nom : J. J. Date : 10. 2. 54 Diagnostic Anémie après radiothérapie. Observations :

P 8

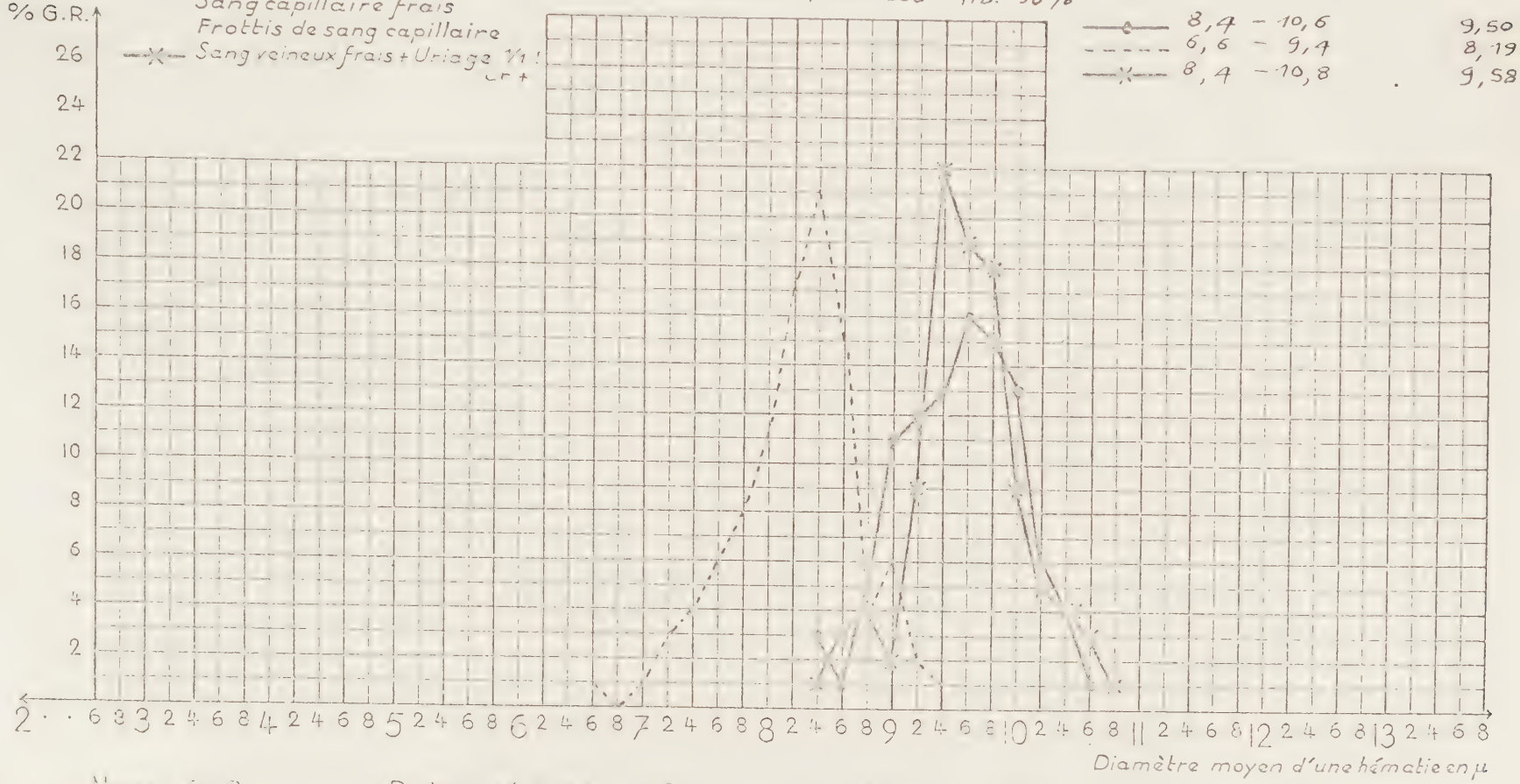
$V_m = 127\ \mu^3$

Sang veineux frais
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Urisage 1/1 ! Cr +

Hématocrite : 55 ½ - 56
54 - 54 ½
Globules rouges : 4.330.000 Hb. 98 %

Etalement des courbes et D. moyen %

8,4 - 10,6		9,50
6,6 - 9,4		8,19
8,4 - 10,8		9,58



Nom: L. P. Date: 26. 1. 54 Diagnostic: Maladie de Gaucher. Observations: Splénectomisé le 2. 11. 51.

P 9

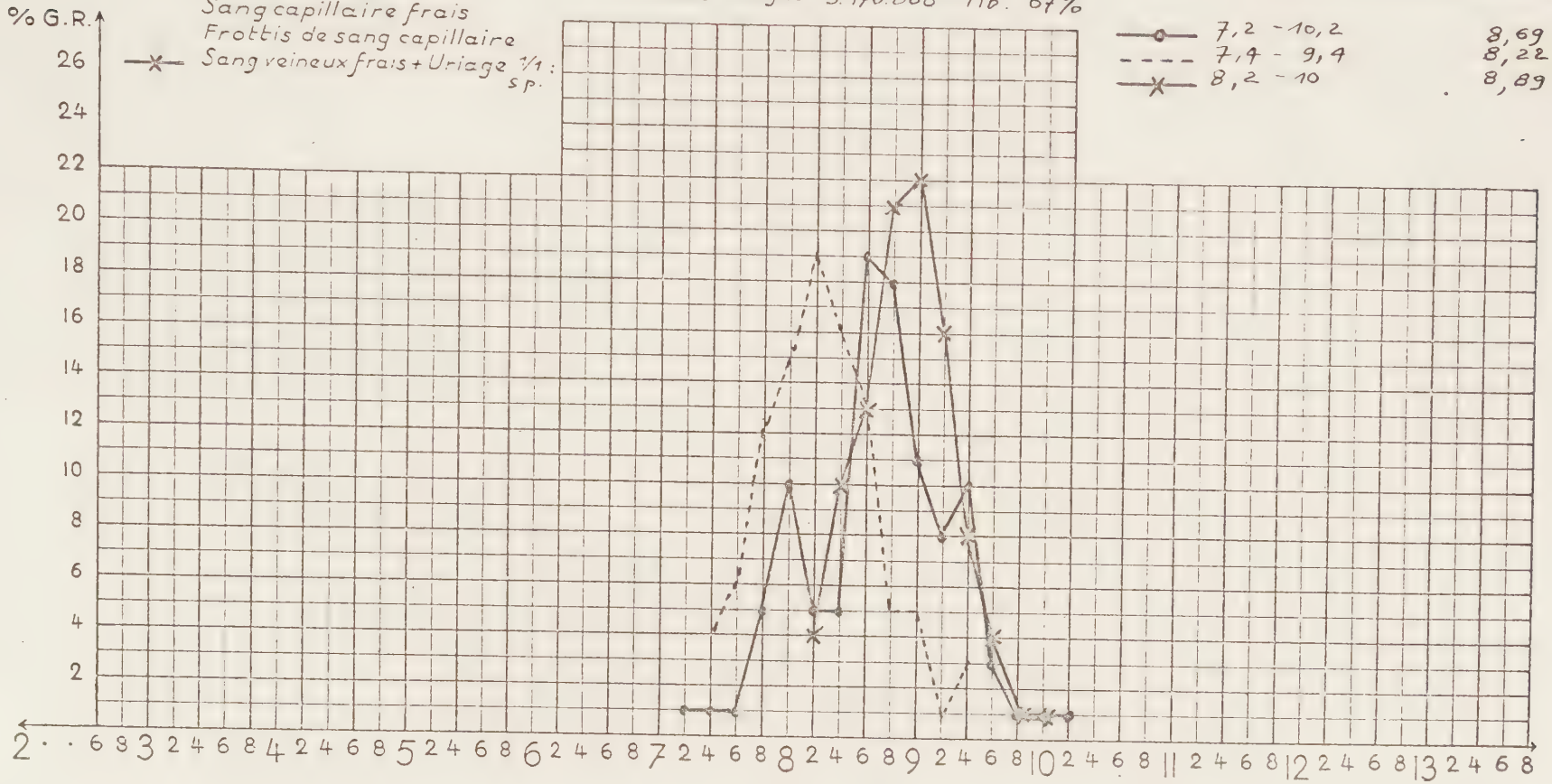
$V_m = 129\ \mu^3$

Sang veineux frais : P++, A++
Frottis de sang veineux
Sang capillaire frais
Frottis de sang capillaire
Sang veineux frais + Uriage 1/1 : sp.

Hématocrite : 41 - 41
Globules rouges : 3.170.000 ° Hb. 67 %

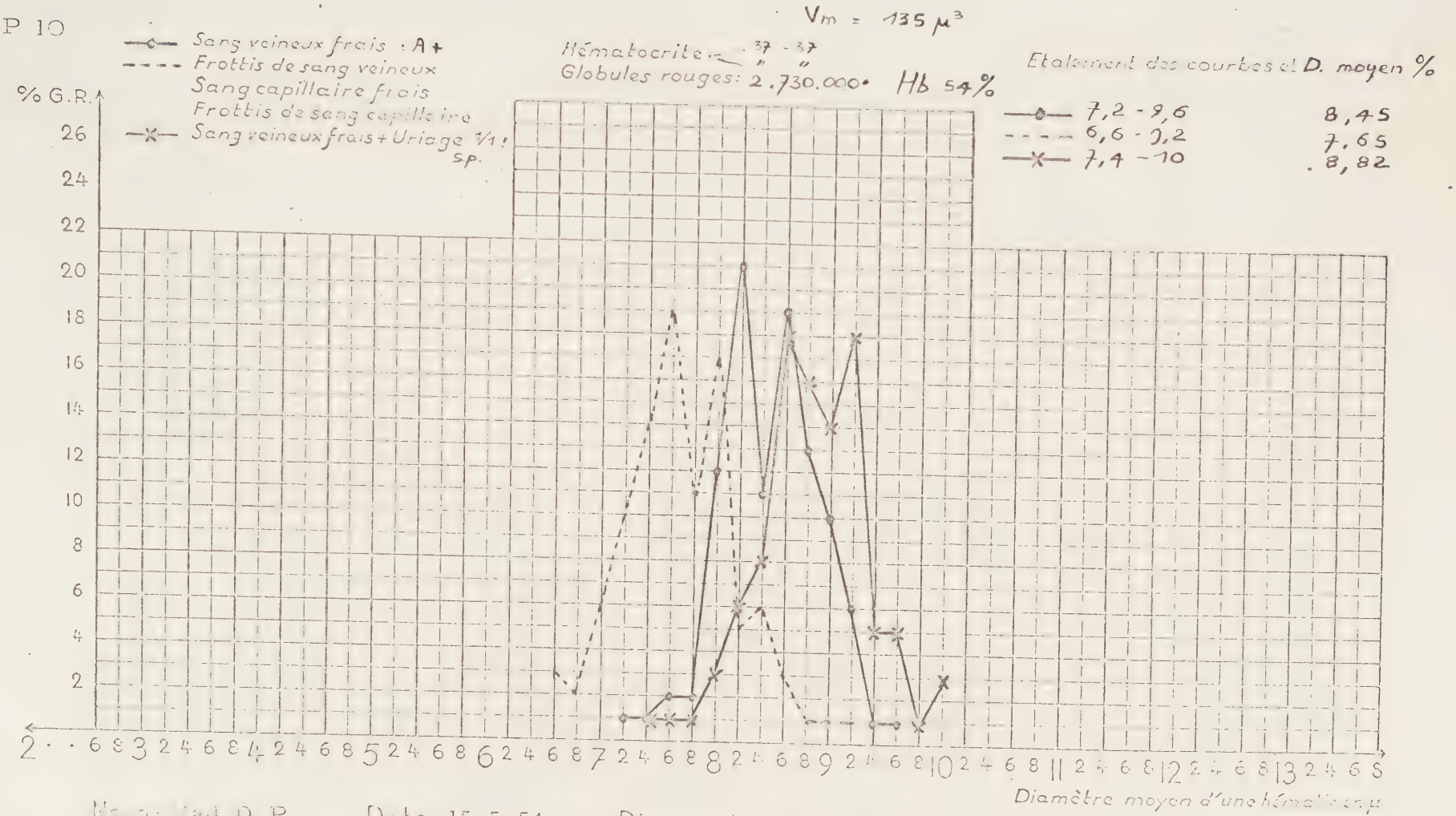
Etalement des courbes et D. moyen %

—o—	7,2 - 10,2	8,69
- - -	7,4 - 9,4	8,22
—x—	8,2 - 10	8,89



Nom : H. M. Date : 9. 6. 54 Diagnostic : Hématome périsplénique. Observations : Splénectomie envisagée.

P 10



Nom: Mad. D. P. Date: 15. 5. 54 Diagnostic Syndrome hémorragique chronique. Observations:

Ces écarts peuvent être très importants quelque soit le volume globulaire moyen.

2) dans les cas pathologiques (Tableau III)

Le DF varie de 7,91 à 9,50 microns
Le DFU varie de 7,51 à 9,58 microns
Le DS varie de 6,72 à 8,37 microns.

L'écart DF - DFU varie de - 0,37 à + 0,40
4 fois le DF est supérieur au DFU
11 fois le DF est inférieur au DFU.

L'écart DF - DS varie de 0,47 à 1,31 micron
L'écart DFU - DS varie de 0,36 à 1,39 micron
Les plus grands écarts de 1,31 et 1,39 micron concernent le même cas. Ce fait est d'autant plus à souligner que dans ce cas, l'écart DF - DFU n'est que de 0,08 micron .

Les deux graphiques illustrent le rapport du volume globulaire (Vm) et du diamètre moyen (Dm) dans une série de cas normaux, puis dans une deuxième série de cas pathologiques (Graphiques I et II).

La plus grande densité se situe dans l'éventail de dispersion englobant les valeurs de Dm obtenus sur sang frais et mélange de sang frais et eau d'Uriage, les valeurs de Dm sur frottis secs se trouvant pratiquement exclu de l'éventail de dispersion autour des valeurs moyennes normales et étant décalées vers le cadran inférieur droit.

Valeurs relatives des mesures du volume et du diamètre globulaire. A choisir entre la mesure du volume globulaire moyen et celle du diamètre moyen, on trouvera en général plus avantageux de déterminer le premier. Dans les anémies les modifications de taille des hématies s'effectuent dans toutes les dimensions. Par conséquent, les modifications de taille des cellules qui seraient trop minimes pour être décelées par la mesure des diamètres moyens sont ainsi mises en évidence lorsque des modifications de toutes les dimensions cellulaires sont déterminées, comme l'indique le calcul du volume.

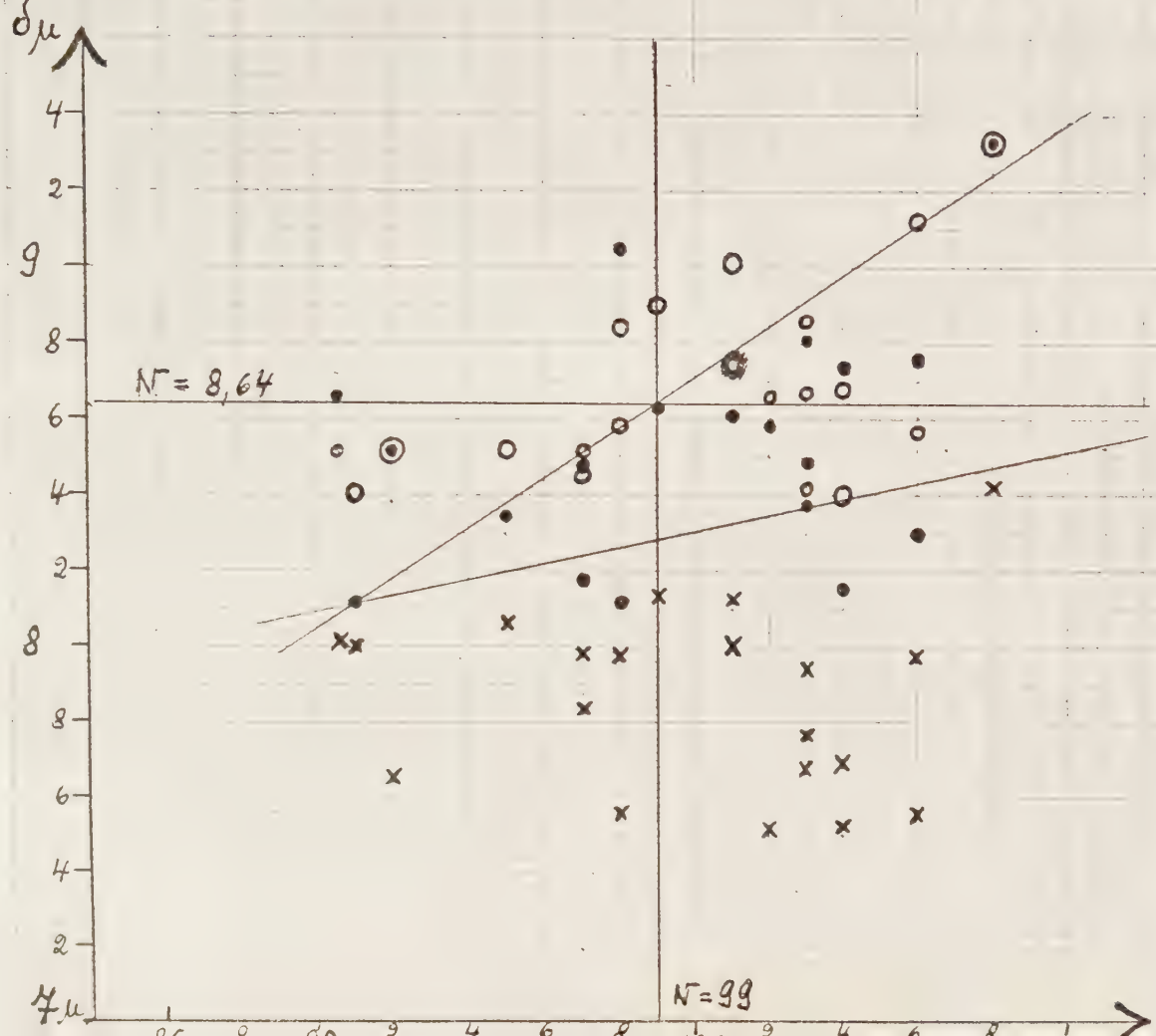
Depuis que le nombre de globules rouges et l'hématocrite sont facilement mesurés, la détermination du volume corpusculaire moyen n'est pas plus pénible que les mesures de diamètre globulaire par une des méthodes de diffraction. Le mérite essentiel de l'étude des diamètres réside dans la démontration du degré de variation, renseignement qui peut être obtenu difficilement mais couramment par l'examen d'une lame de sang. Seul occasionnellement, il faut étudier le diamètre cellulaire plus exactement que par simple examen d'un frottis sanguin et alors il est préférable d'utiliser la méthode microscopique plutôt que celle de diffraction depuis que ces dernières donnent seulement des valeurs moyennes.

Gr E

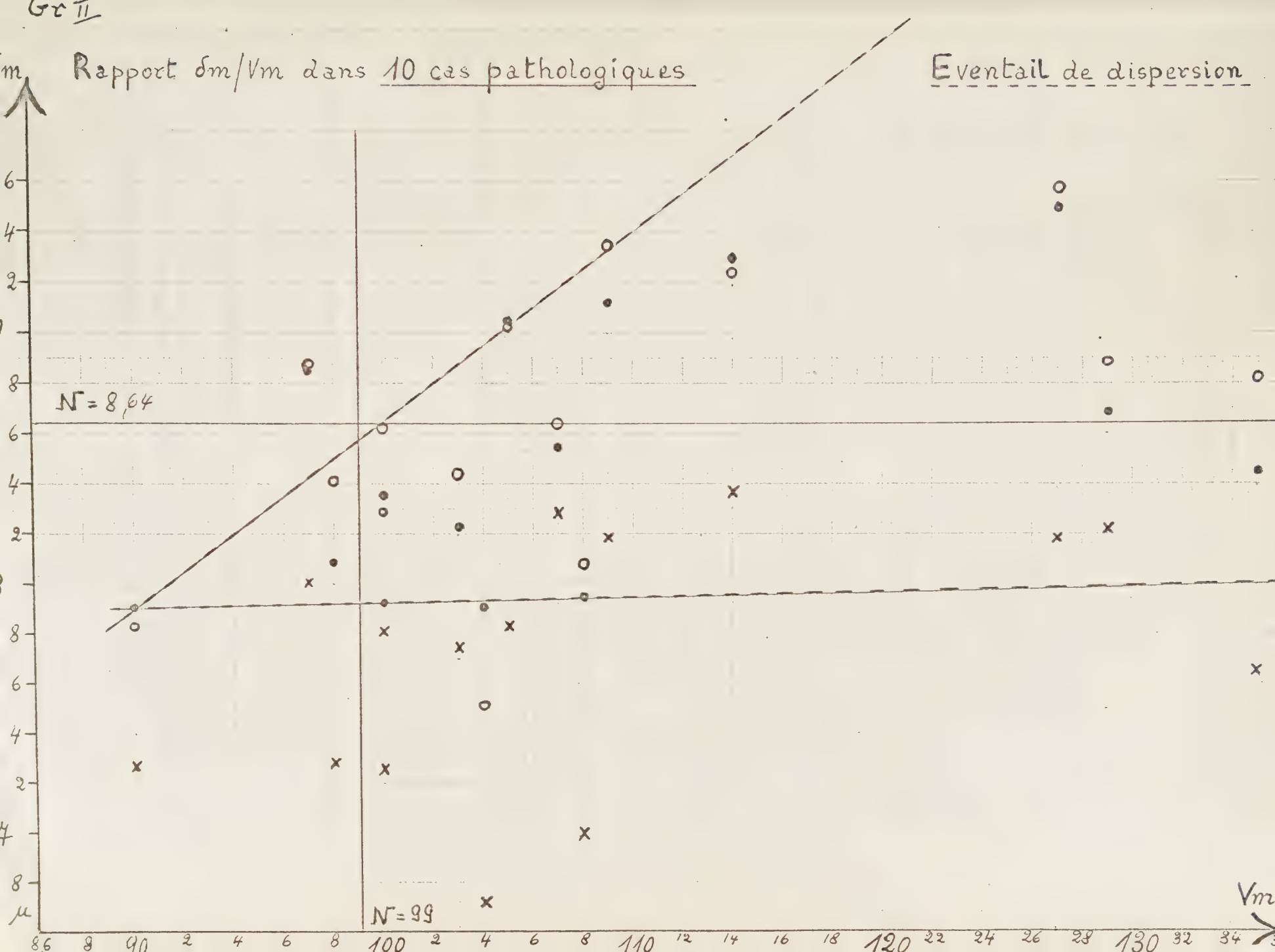
Rapport entre δm et Vm^3 illustrant la distribution des valeurs de DF, DFU et DS autour de la normale dans 20 cas normaux.

δ moyen pour 100 :

- • sang veineux frais
- o s. veineux + Uriage
- x frottis veineux



Gr II


δm
Rapport δm/Vm dans 10 cas pathologiques
Eventail de dispersion
N = 8,64
N = 99
Vm
μ
6
4
2
8
6
4
2
8
6
4
2
8
86
8
90
2
4
6
8
100
2
4
6
8
110
12
14
16
18
120
22
24
26
28
130
32
34

La connaissance des modifications de diamètre globulaire observées dans ces quelques cas pathologiques étudiés, nous a amené à conclure qu'il y avait une régulation physiopathologique de cette constante biométrique et qu'en fonction du décalage vers la droite ou la gauche de la courbe gaussienne, - compte tenu des autres paramètres - nous pouvons classer les anomalies de diamètres globulaires en 4 catégories, à savoir :

1) Les macrocytes : de telles cellules qui mesure 8 microns et davantage ont une forme normale, discoïdale. Le rapport de leur épaisseur et de leur diamètre est conservé, ce qui les distingue des mégalocytes.

Le diamètre des érythrocytes est augmenté dans les maladies du foie. SCHALM (77), BRAIER, LARSEN (46 -1), CREYSSEL (20) ont apporté d'importantes contributions à leur étude.

2) Les microcytes : avec un diamètre globulaire diminué, sans modification du rapport épaisseur/diamètre, ils se différencient ainsi des sphérocytes. Ce sont des cellules moins chargées en hémoglobine, leur valeur globulaire est inférieure à 1. On les rencontre dans les anémies hypochromes.

3) L'anisocytose : ce terme distingue un état, une tendance, sans impliquer le sens de la déviation dans la courbe de distribution. Beaucoup d'anémies sont anisocytaires : la variation de taille des érythrocytes est très grande, ce qu'indique parfaitement la courbe de Price-Jones, dont la base est très élargie et le sommet aplati dévié à droite ou gauche, selon la prédominance macro- ou microcytaire. Dans ces anisocytoses, tous les types d'érythrocytes peuvent se voir, mûrs ou immatures, ils sont alors de valeurs globulaires différentes et la détermination de la valeur globulaire moyenne (Vgm) perd sa signification.

4) Les platycytes ou leptocytes : ce sont des érythrocytes dont l'épaisseur est très réduite, alors que le diamètre est augmenté : comme dans les sphérocytes, leur volume reste inchangé par rapport à celui de la forme discoïdale normale.

Il découle de ces observations que les variations du diamètre ne traduisent pas forcément des variations parallèles du volume. La diminution du diamètre peut correspondre à une réduction de toutes les dimensions de l'hématie, donc de son volume, mais aussi à une simple déformation de celle-ci avec augmentation de l'épaisseur et conservation d'un volume normal (sphérocytose). De même, l'accroissement du diamètre peut indiquer un agrandissement total ou simplement un aplatissement. On peut admettre que chaque érythrocyte d'un sujet donné rétrécit d'une part égale, quelque soit sa taille.

Les modifications pathologiques élémentaires

Notre étude portant sur les modifications du diamètre érythrocytaire dans différents cas pathologiques nous a amené à adopter le schéma de classification énoncé par CREYSSEL et BOSSON dans leur ouvrage traitant des "syndromes anémiques et de l'érythrocytométrie" (19).

Ces modifications pathologiques sont de 4 ordres :

- la macrocytose physiologique
- la macrocytose pathologique
- la microcytose
- l'hypochromie.

Les précédentes modifications peuvent se voir dans certains cas il est vrai, mais le plus souvent il s'agit de troubles complexes. La courbe de Price-Jones permet seule de montrer les associations à la popu-

lation normocytaire habituelle de populations pathologiques élémentaires.

Dans les cas simples, on trouve une association de population microcytaire à une population normocytaire : anémies sidéropéniques essentielles ou secondaires.

Association à la population normocytaire d'une population macrocytaire dans la maladie de Biermer guérie ou traitée ; d'une population platicytaire dans les affections hépatiques.

Les cas intermédiaires se manifestent par l'apparition d'une population du type macrocytose physiologique, dans les anémies hémorragiques chroniques.

Les cas complexes, mixtes se signalent par l'association de populations autonomes mégalocytaires macro- et microcytaires dans les mégaloblastoses, formant des courbes à 4 composantes. L'ensemble étant à très nette prédominance macrocytaire.

Association à une population normocytaire prédominante de multiples populations de tous les types, formant une courbe anarchique dans les anémies aplastiques.

Ainsi, chaque type de carence peut être défini par ces méthodes selon une notion physiopathologique. De plus, dans tous ces cas, une carence associée plus ou moins prédominante entraînera l'hypertrophie ou l'atrophie de la population correspondante.

A titre de référence, et afin de rendre possible à première vue l'interprétation et l'étude détaillée des courbes de Price-Jones dans les cas pathologiques, nous avons schématisé l'allure générale de celles-ci (fig. 10) d'après les travaux de CREYSSEL et BOSSON (19).

Courbes simples

I - Allure normocytaire normale.

I'- Normocytose avec macrocytose physiologique.

Courbes hétérogènes

II - Normocytose avec importante macrocytose pathologique.

III - Normocytose avec microcytose pathologique importante.

IV - Normocytose avec importante microcytose pathologique et macrocytose du type physiologique.

V - Normocytose avec nombreuses populations de types divers.

VI - Normocytose avec mégalocytose, macrocytose et microcytose.

VII - Courbe semblable mais avec microcytose plus importante.

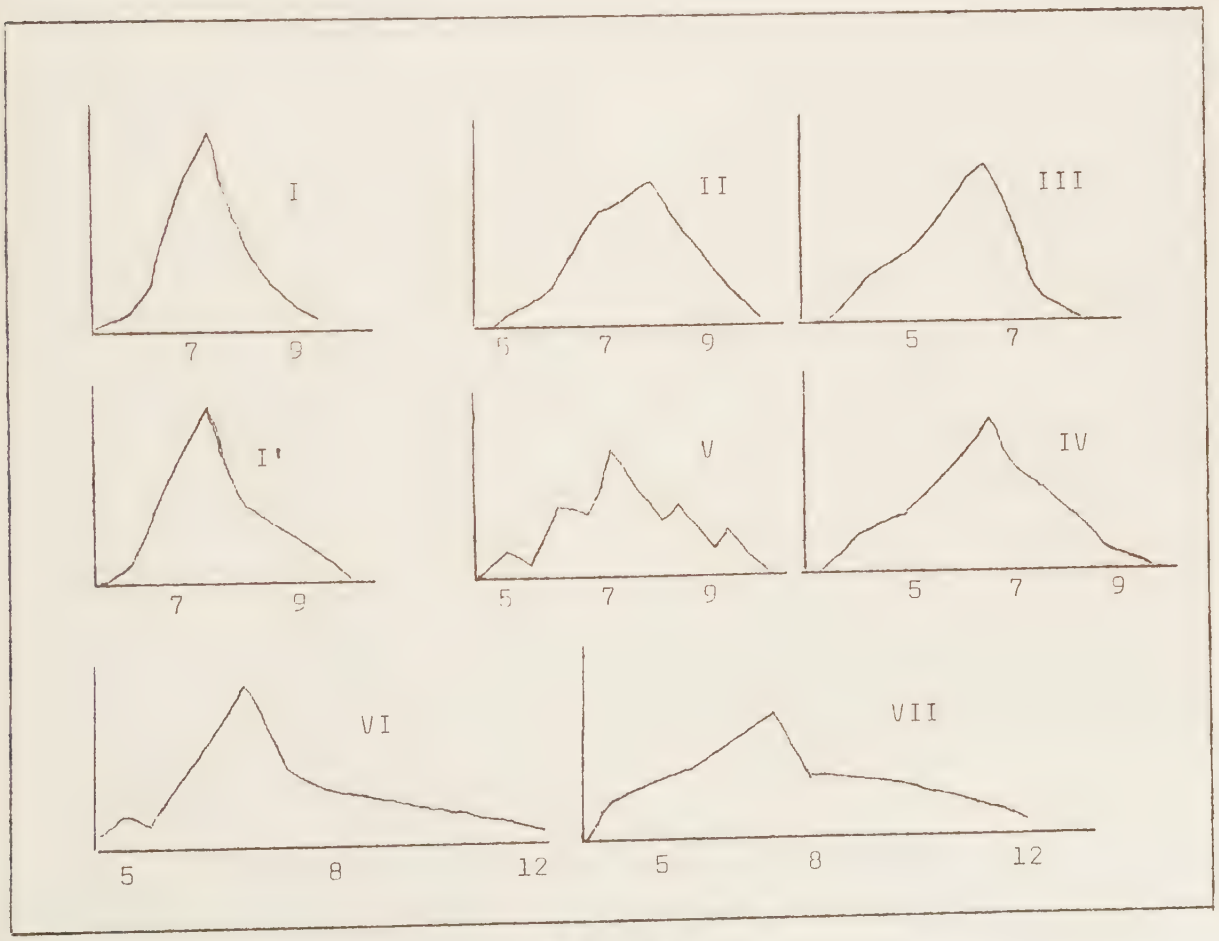


Fig X.

Il n'est pas dans nos intentions de faire une classification basée sur le tableau biométrique périphérique ; nous montrerons seulement que grâce à l'érythrocytométrie et partant de là, l'analyse de la courbe homogène ou hétérogène, on peut approcher le problème physiopathologique de plus près, aidés en cela par une confrontation de ces données et de celles de la cytologie médullaire, de la clinique et de la biologie.

Après avoir entrevu la régulation physiopathologique du diamètre globulaire, nous pouvons admettre le rôle du diamètre moyen des hématies comme élément de différenciation des ictères.

Depuis longtemps déjà les cliniciens avaient remarqué que dans les affections hépatiques, le diamètre des globules rouges était augmenté. C'est surtout dans les cirrhoses que cette macrocytose a été étudiée ; dans d'autres formes d'ictères, VAQUEZ l'avait déjà signalée. On a, par la suite, reconnu également l'importance des symptômes de la macrocytose dans les ictères non cirrhogènes. Il y a des années, SCHALM (77 -2) avait émis l'hypothèse que la mensuration du diamètre moyen des globules rouges pourrait fournir des renseignements précieux dans le diagnostic différentiel des ictères. Cette hypothèse de travail, basée alors seulement sur un nombre restreint d'observations a été élaborée dans l'étude ultérieure d'un grand nombre de cas. Les conclusions formulées portaient sur plus de 100 cas d'ictères.

La mesure du diamètre moyen globulaire a été effectuée par halométrie avec l'appareil de Pijper. On sait que cet appareil a simplifié notablement les mensurations au point de les réduire à un examen fort simple exigeant peu de temps.

De cette première série de données, SCHALM et ses collaborateurs concluèrent que : si, dans un cas d'ictère, on trouve le diamètre moyen

des globules rouges augmenté de 1,0 micron ou davantage, ce symptôme indique avec une très grande probabilité qu'il y a ou une destruction étendue ou une altération fonctionnelle grave du parenchyme hépatique.

Si les ictères par obstruction des voies biliaires s'accompagnent aussi d'une certaine macrocytose, ce symptôme est toujours bien plus discret que dans les ictères par lésion du parenchyme hépatique. Dans la plupart des cas d'ictères par obstruction simple, le diamètre moyen reste normal ou ne se trouve augmenté que légèrement ; mais cette augmentation ne dépasse pas 0,7 micron en général, quelle que soit la cause de l'obstruction.

On remarquera d'une part qu'une augmentation du diamètre de 0,7 micron a été choisie comme limite maxima au-dessous de laquelle cette méthode indique avec grande probabilité l'existence d'une obstruction biliaire ; d'autre part, une augmentation de 1,0 micron a été choisie comme limite minima au-dessus de laquelle elle doit faire porter le diagnostic de lésions parenchymateuses graves ou de cancer de la tête du pancréas. Comme l'écart de 0,3 micron, entre ces deux limites suffit à couvrir les différences entre les valeurs normales et les erreurs inhérentes à la méthode de mensuration, elle exclut autant que possible l'éventualité que le diagnostic clinique soit sous la dépendance d'une erreur technique. De cette façon, on écarte aussi les cas limites.

Comme c'est le degré de l'augmentation du diamètre des globules rouges qui influence le diagnostic, il est indispensable que les lectures se fassent avec un maximum de soin et d'exactitude. De plus on répètera la mensuration plusieurs fois chez un même malade pendant l'évolution de son ictère.

Les travaux de LARSEN (46 -1), portant sur les modifications du diamètre globulaire dans les affections hépatiques font connaître les

mécanismes physiopathologiques des modifications du diamètre érythrocytaire. Nous avons écarté intentionnellement de notre champ d'observation et de mensuration les cas de maladie de Biermer. L'étude de cette anémie hyperchrome mégaloblastique et macrocytaire a fait l'objet de nombreux travaux de la part des auteurs anglo-saxons ; en effet, la notion de variation du diamètre globulaire est liée d'abord à l'étude de l'anémie de Biermer, avant de passer à celle des autres anémies et de leurs modifications diamétrales.

Plus récemment, un groupe de travail de lyonnais avec la participation de CREYSSEL, NORMAND, MOREL et CROIZAT (20) a traité le sujet dans un article sur les problèmes et indications thérapeutiques au cours des anémies mégaloblastiques et macrocytaires. De nombreux autres chercheurs ont repris ce sujet de travail et de publications.

Utilité de la méthode

L'étude simultanée de ce diamètre moyen, du volume moyen de la surface et de quelques autres paramètres complémentaires donne des indications sur la forme et la taille d'une hématie représentant la moyenne des hématies de l'individu.

On réalise aussi une étude statistique de la production des hématies et de leur état dans le sang circulant ; les vices de production ou les modifications secondaires sont mises en évidence.

Les indications fournies par l'étude biométrique sont doubles : elles servent à établir une hématie moyenne dont on connaît la forme et les dimensions, et elles mesurent les écarts plus ou moins grands des différentes hématies d'un individu par rapport à cette moyenne.

La mensuration précise des hématies, la recherche des valeurs moyennes par les méthodes statistiques sont bien connues actuellement, depuis les travaux multiples de PRICE-JONES (71 -5), de WINTROBE (91 -4), de HADEN (36 -3) et de WHITBY (89). Il nous semble, cependant, que ces méthodes ne sont pas suffisamment répandues malgré les appréciables services qu'elles peuvent rendre à la clinique. De plus, l'introduction successive, souvent à plusieurs années d'intervalle, de nouvelles mesures, a créé une certaine confusion dans la terminologie. Nous n'en voulons pour exemple que les termes de macrocytose ou de microcytose dont la définition est basée sur le diamètre moyen, et qui désignent parfois respectivement des globules rouges larges mais très minces ou des hématies étroites mais très épaisses. Les auteurs italiens FERRATA et STORTI (25) distinguent la microplanie de la microcytose vraie et la macroplanie de la macrocytose vraie.

L'hématie peut subir des variations de taille et de forme. Il est utile de les définir de façon précise. Il est des cas, et nous citons plus particulièrement l'anisocytose, où l'étude ne se bornera pas à ces mensurations de valeur moyenne bien qu'elles y gardent tout leur intérêt. Nous établirons des courbes de fréquence sur la taille des hématies qui est alors très variable. Ces courbes seront alors basées uniquement sur les variations du diamètre selon la méthode proposée par PRICE-JONES. On peut leur adjoindre un coefficient d'anisocytose proportionnel aux variations.

Nous avons appliqué ces méthodes à des sangs normaux et à des sangs pathologiques ; elles se sont révélées d'une grande utilité pour déterminer les diverses anomalies de lérythropoïèse ou de l'érythrolyse et ont permis de préciser bien des diagnostics.

Intérêt de ces mesures

En l'état actuel de nos procédés d'étude biométrique des érythropathies, on peut arriver à des déterminations suffisamment précises de 4 chiffres indispensables, à savoir le volume globulaire total mesuré par centrifugation poussée, le nombre d'hématies mesuré à l'hématimètre, le dosage de l'hémoglobine mesuré au moyen de l'hémoglobinomètre et le diamètre globulaire moyen mesuré par projection microscopique. A l'aide de ces chiffres, on peut calculer toutes les dimensions d'une hématie théorique correspondant à la moyenne de toutes les hématies de l'individu et connaître la valeur globulaire et la concentration hémoglobinique du sang étudié. De plus, la mesure du diamètre de chaque hématie permet une étude statistique et la construction de courbes de Price-Jones.

L'étude métrique de l'hématie moyenne fait ressortir diverses variations pathologiques pouvant se classer en modifications de taille (macrocytose et microcytose) et en modifications de forme (sphérocytose et patycytose).

L'étude du profil érythrocytaire qui schématise ces variations, permet un diagnostic souvent précis de diverses érythropathies, en particulier des anémies. S'il est facile, en effet, de diagnostiquer une maladie de Biermer par le myélogramme, ou une maladie hémolytique par la fragilité globulaire, il n'en est pas de même lorsque l'anémie mégaloblastique macrocytaire a déjà été traitée insuffisamment (l'érythropoïèse est alors souvent normoblastique) ou lorsque la fragilité globulaire de la maladie hémolytique est peu nette. Dans ces cas, ainsi que dans d'autres anémies où le myélogramme ne donne que peu d'indications, l'étude du profil globulaire est particulièrement profitable. Il met en évidence une macrocytose dans la maladie de Biermer et dans un groupe d'anémies qualifiées alors de macrocytaires, une sphérocytose dans les syndromes hémolytiques congénitaux ou acquis, une microcytose dans les anémies hémoglobiniques.

CONCLUSION

Afin de réaliser des conditions de mensurations globulaires favorables, il est possible d'utiliser l'eau d'Uriage dans la dilution du sang frais. L'eau d'Uriage empêche la formation des amas globulaires qui sont très fréquents si l'on dépose une goutte de sang frais entre lame et lamelle. L'eau d'Uriage laisse un temps largement suffisant pour la détermination du diamètre globulaire frais moyen ou de la courbe de Price-Jones correspondante.

La différence entre l'écart : diamètre moyen des globules de sang frais et diamètre de globules de sang frais avec eau d'Uriage d'une part - et l'écart : diamètre moyen des globules de sang frais avec ou sans eau d'Uriage et diamètre sec d'autre part, est telle que le diamètre frais avec eau d'Uriage peut être valablement retenu. Ceci est important en raison de la facilité de la détermination du diamètre frais avec l'eau d'Uriage. Ainsi, est permise l'étude comparative systématique des diamètres frais et sec et l'analyse du degré de rétraction constante, mais très variable subie par l'hématie lors de sa dessication.

Le degré de cette rétraction est en rapport avec des modifications physiques de l'hématie. La traduction graphique de ces mesures érythrocytaires, de leurs écarts, de leurs fréquences de classes ne pouvait se faire sans établir une courbe de Price-Jones qui allait permettre la lecture rapide du bilan érythrocytométrique dans les cas normaux et pathologiques.

Notre but est de contribuer par une technique expérimentale qui est aussi une forme de l'observation, à la soumission de l'analyse à la synthèse, de la partie au tout, sans jamais oublier que la physio-pathologie est à la base de toute exploration fonctionnelle, quel que soit le mode d'investigation envisagée.

Il reste donc à souhaiter que cette technique de mensuration du diamètre globulaire, qui n'a d'autre prétention que d'indiquer un nouveau moyen d'étude et une plus grande exactitude des résultats démontrée par les courbes gaussiennes, entre dans le cadre des examens de laboratoire au même titre que le classique hémogramme ; le clinicien en tirera souvent de précieux renseignements.

VU
STRASBOURG, le 6 décembre 1968

LE PRESIDENT DE THESE
Signé : R.WAITZ.

VU ET APPROUVE
STRASBOURG, le 6 décembre 1968

POUR LE DOYEN DE LA FACULTE DE MEDECINE
LE PROFESSEUR DELEGUE
Signé : STEPHAN.

BIBLIOGRAPHIE

1) ALBRITTON, E.C. : Standard values in blood. 1st ed., 199 pp. Philadelphia and London. W.B. Saunders Company, March 1963.

2) ALDER, A. : Das Problem der Erythrocytengrösse. Klin. Wchnschr., 17, 413-4, 1938.

3) ARCHI, A. : Etudes actuelles sur l'anisocytose des érythrocytes et leur application au diagnostic des maladies du foie. Paris Méd., 99, 561-3; 1936.

4) BELL, J.R., THOMAS, F.K. and MEANS, J.H. : Studies on red cell diameter. I : In Health and in pernicious anemia. J. Clin. Investigation, 3 : 229-334 : 1926-27.

5) BENHAMOU, E. et NOUCHI, A. : Les aspects du sang dans les cirrhoses du foie. Presse Méd., 45 : 1027-30, 1937.

6) BERNSTEIN, J. : Vergleich und praktischen Wert der Methoden zur Bestimmungen des Erythrocytendurchmessers. Folia Haemat., 52, 456-9, 1934.

7) BESSIS, M. (1) : Traité de cytologie sanguine, 1954, 279. Masson & Co.

(2) Cytology of the blood and bloodforming organs. 1956, N.York, London.

8) BOCK, H.E. : Neue Möglichkeiten praktischer Anämiediagnostik. (Ergebnisse der Erythrocytenmetrie). Münch. Med. Wschr., 81, 1646-9 ; 1686-9, 1934.

9) BOCK, H.E. und GRIESBACH, W. : Uber die Erythrocytenmessung durch Halometrie. Klin. Wschr., 12, 782-4, 1933.

10) BOCK, H.E. und JOMBRES, P. : Strittige Ansichten über die Klinische Bedeutung der Erythrocytengrösse. Klin. Wschr., 18 : 844-8, 1939.

11) BOROS, J.V. (1) : Über Grösse, Volumen und Form der menschlichen Erythrocyten und deren Zusammenhang. I : Die physiologische Anisocytose. Wien Arch. Inn. Med., 12 : 243-72, 1926.

(2) III : Über der pathologische Anisocytose. Wien. Arch. F. Inn. Med., 14, 193, 1927.

12) BOROVICZENY, K.G.V. : Erythrocytometric methods and their standardization - Proc. Symposium XVIII, 9th Congr. Europ. Soc. Haemat., Lisbon, 1963 (S. Karger, Basel.N.York, 1964).

13) BOROVICZENY, K.G.V. und SAFFAR, H. : Halometrische Erythrocytendurchmesserbestimmung. Schweiz. Med. Wschr., 92, 1327-9, 1962.

14) BROWN, C., MILES, F., VAUGHAN & WHITBY, L.E.H. : Effect of Haemorrhage upon red cell size. Brit. Med. J., 1, 99, 1942.

15) CAMO, G. : Etude biométrique des érythropathies. Thèse Montpellier, Imprimerie de La Charité, 1948.

16) CAZAL, P. : Orientation actuelle des techniques de laboratoire pour le diagnostic et la classification des anémies. Actualités Hématologiques, I (1951), p. 5-43.

17) CAZAL, P. et CAMO, G. : Le profil érythrocytaire et ses anomalies. (Application à l'étude des érythrocytopathies). Le Sang, 20.2.1949, p. 121-37.

18) COLLATZ, B. : Das Blut des Menschen mit neuren Methoden untersucht Arc. f. d. Ges. Physiol. (Pflügers Arch.), 220, 691, 1928.

19) CREYSSEL, R. & BOSSON, P. : Syndromes anémiques et érythrocytométrie 392 pp., Paris, G.Doin & C° (1951).

20) CREYSSEL, R., NORMAND, J., PAYEN, G., Mme CHIPPAUX, Cl., MOREL, P. et CROIZAT, P. : Problèmes et indications thérapeutiques au cours des anémies mégaloblastiques et macrocytaires. Extrait de Rev. Lyonnaise de Méd., 30 mars 1955, pp. 183-210, T. IV, n°6.

21) DALAND, G.A., HEATH, C.W. & MINOT, G.R. : Différentiation of pernicious anemia and certain other macrocytic anemias by distribution of red blood cell diameters. Blood, 1, 67, 1946.

22) DAVIDSON, L.S.R. & Mc CRIE, J.G. : The phenomen of reticulation and the alteration in size of the red blood corpuscles after liver therapy. Lancet, 1014-7, 1928.

23) DRYERRE, H., MILLAR, W.G. & PONDER, E. : An investigation into the size of human erythrocytes before and after exercise. Quart. J. Exper. Physiol., 69 : 1926.

24) EMMONS, W.F. : (1) The interrelation of number, volume, diameter and area of mammalian erythrocytes. J. Physiol., 64 : 215, 1927.

(2) The clinical eriometer. Quart. J. Med., 21, 83-90, 1928.

25) FERRATA, A., STORTI, E. : Le mallatie del sangue. 1 vol. Milan, 1946.

26) FITZHUGH, G. & PERSON, E.L. : Studies on red blood cell diameter. IV : The decrease in the mean diameter of the reticulocytes and adult red blood cells in pernicious anemia following liver therapy. J. Clin. Investigation, 7, 631, 1929.

27) FLEIG, Ch. : Les eaux minérales, milieux vitaux, Maloine, 1909.

28) FOWLER, W.M. : Hematology. Revised second edition, January 1949. Ed. Paul B. Hoeber, Inc, N.York, p. 502-3.

29) FREERKSEN, E. : (1) Experimentelle Untersuchungen über das Problem der Erythrocytengrösse. Ztschr. f. Anat. u. Entwikl. Gesch., 107, 503-9, 1937.

(2) Das Problem der Erythrocytengrösse - eine anatomische Frage ? Klin. Wschr., 16, 1238-41, 1937.

30) GAMNA, C. : (1) L'anisocitosi dei globuli rossi del sangue. Minerva Med., 6, 730, 1926 (Cit. Van Duyn).

(2)Uber Veränderungen der roten Blutkörperchen bei Lebererkran - kungen. Klin. Wschr., 12, 348f, 1933.

31) GELLER, S. : ABC de statistique à l'usage des étudiants en médecine et en biologie, Masson, p. 60-74. 1967

32) GOLDBERG, L., GUNVALL, F., HAMMARSTEN, G., LINDGREN, G. : The determination of the diameter of the red blood corpuscules. Acta Med. Scandinav., 1949.

33) GRAM, H.C. : On the size and form of the red blood cells in normal and anemic cases. Acta Med. Scand., 66, 295-310, 1927.

34) GROSCH, L.C. & STIFEL, J.L. : The diameter of the red blood cells in the differentiation of anemiae. Arch. Int. Med., 36, 874, 1925.

35) GUNTHER, H. : (1) Die klinische Bedeutung der Grössenbestimmung der Erythrocytendurchmesser. Dtsch. Arch. Klin. Med., 161, 18-58, 1928.

(2) Formproblemeammeschlichen Erythrocyten. Fol. Haemat., 35, 383-417, 1928.

36) HADEN, R.L. : (1) Methods and clinical value of the determination of the size of the red blood cell. Am. J. M. Sc., 181, 597-609, 1931.

(2) Comparison of method for determining the size of the erythrocyte. J. Lab. & Clin. Med., 16, 976-85, 1931.

(3) The volume, diameter ans shape of the erythrocyte. Folia Haemat., 56, 88-92, 1936.

(4) Diffraction method for measuring the diameter of the red blood cell. J. Lab. Clin. Med., 23, 508-18, 1938.

(5) A new instrument for the diffractometric measurement of the diameter of red blood cell. J. Lab. Clin. Med., 25, 399-403, 1940.

37) HARVIER, P. & LAVERGNE, G.H. : Mesure directe de l'épaisseur moyenne des hématies et de la sphérocytose. Sang, n° 2, p. 67-74, 1946.

38) HAYEM, G. : Du sang et de ses altérations anatomiques. Paris 1889, pp. 934-6.

39) HERNBERG, C.A. : Die Grösse und Form der roten Blutkörperchen bei Menschen verschiedenen Alter unter physiologischen Verhältnissen. Acta Med. Scand., Suppl. 122 (Hersingtors, 1941).

40) HOLLER, G., KUDELKA, O. : Resultate von Bestimmungen des Erythrocytendurchmessers beim Menschen unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen. Folia Haemat., 35, 97-105, 1928.

41) JORGENSEN, S. & WARBURG, E.J. : The indices and diameters of the erythrocytes and the best haematological criterion of pernicious anemia. Acta Med. Scand., 66, 109-18, 1927.

42) KAEMMERER, A. : Über die Prozentuale Verteilung der Erythrocytengrösse bei verschiedenen Anämien. Z. Klin. Med., 119, 701-10, 1932.

43) KURODA, K., KOMATSU, M. : Détermination de la sphéricité des globules rouges. Sang, 28, pp. 875-92, 1957.

44) LANGE, H. & PALMER, H. : The normal erythrocyte values - Especially in war times. Acta Med. Scand., 127, 1, 1947.

45) LARAT, P. : (1) L'injection intra-tissulaire d'eau minérale d'Uriage. Bulletin de l'Académie de Médecine, 1.4.25, n° 15.

(2) Le dynamisme de l'eau d'Uriage, 1923.

46) LARSEN, G. : (1) The distribution of red blood cell diameters in liver diseases. Acta Med. Scand., Suppl. 220. (Nationaltrykkeret, Oslo, 1948).

(2) Red blood cell diameters in wet and dry preparations. Scand. J. Clin. Lab. Investig., 7, 62-8 (1955).

47) LEIBETSEDER, F. : Vergleich der Erythrocytendurchmesser in Milz und peripheren Blut bei Splenomegalien. Proc. V. Congr. Europ. Haemat. Soc., Freiburg, 1956, pp. 324-9.

48) LEICHSENRING, J.M., DONELSON, E.G. & WALL, L.M. : Effect of measurements technics on values for diameter and other factors in blood pictures. Am. J. Physiol., 141, 270, 1944.

49) LEPEL, G. : Die Messung des Erythrocytendurchmessers. Dtsch. Arch. Klin. Med., 180, 341, 50, 1937.

50) LIEBERHERR, W. : Zur Methodik der Erythrocytenmessungen. Klin. Wschr., 16, 17f, 1937.

51) LOTTRUP, M.C. : Über Mikrometrie der roten Blutkörperchen nach Buntzen und Gram. Acta Med. Scand., 72, 532, 1929.

52) LUCKNER, H. & TILGER, F. : Über die klinische und praktische Bedeutung der Bestimmung des mittleren Erythrocytendurchmesser mit Hilfe der halometrischen Methode unter besonderer Berücksichtigung der Leberkrankheiten. Z. Ges. Exper. Med., 99, 126-43, 1936.

53) MAIZELS, M. & WHITTAKER, N. : Effect of storage on human erythrocytes. Lancet, 113, 1940.

54) Mc CORMICK, A.R. : The diameter of red blood cells in health and in anemia. Arch. Int. Med., 39, 799, 1927.

55) MANASSEIN : Über der Dimensionen der roten Blutkörperchen unter verschidenen Einflussen. Tübingen 1872 (cit. f. MOGENSEN).

56) MAYER,G. : 150 vergleichende Bestimmungen des durchschnittlichen Durchmessers der roten Blutkörperchen mit Blutzelleprüfer nach Zeiss-Pijper und mit der Okularmikrometermethode. Z. Ges. Exper. Med., 108, 260-74, 1941.

57) MEDEARIS, D.N. & MINOT, G.R. : Studies on red blood cell diameter. J. Clin. Investig., 3, 541, 1926/27.

58) MILLER, W.G. : The diffraction method of measuring the diameters of erythrocytes. Proc. Roy. Soc. London, B.99, 264-78, 1926.

59) MOGENSEN, E. : Studies on the size of the red blood cells, especially in some anemias. Copenhagen/London, 1938.

60) MURPHY, W.P., FITZHUGH, G. : Red cells size in anemia. Its value in differential diagnosis. Arch. Int. Med., 46, 440, 1930.

61) NAKAYAMA, Y. : Influence des ions de la solution de sel neutre sur la morphologie des globules rouges. Yokohama Med. Bull., 9, 90-100, 1958.

62) OHNO, M., GISEVIUS, O. : Schwankungsbreite und Schwankungsart der Durchmesser menschlichen Erythrocyten. Arch. f. d. Ges. Physiol. (Pflügers Arch.), 210, 315, 1925.

63) PERSON, E.L. : The relative diameter of immature reticulocytes and adulte red blood cells in health and anemia. J. Clin. Investig., 7, 615, 1929.

64) PIJPER, A. : (1) Eine neue Methode Diffraktionsverfahren für die Durchmesserbestimmungen von roten Blutzellen. Fol. Haemat., 38, 320-38, 1929.

(2) On measuring red blood cells. Lancet, 228, 1152-54, 1935 I.

(3) The diffraction method of measuring red blood cells. J. Lab. Clin. Med., 32, 857-77, 1947.

65) PINEL, E. : La méthode statistique en médecine. Paris 1945.

66) POHLE, K. : Über die Grösse und Grössenstreuung der roten Blutzellen bei Anämien. Ztschr. f. Klin. Med., 106, 651, 1927.

67) PONDER, E. : Red blood cell dimensions. Measurements. In Medical Physics, pp. 1203, 1923.

68) PONDER, E. & PONDER, R.V. : Transformation disque-sphère des globules rouges humains entre deux surfaces de verre. Nouv. Rev. Franç. Hémat., 2, 223-9, 1962.

69) PONDER, E. & MILLAR, W.G. : The measurements of the diameter of erythrocytes. I - The mean diameter of the red cells in Man. Quart. J. Exper. Physiol., 14, 67-82, 1924.
II - The effect of drying on the diameter of the red cells in man. Quart. J. Exper. Physiol., 14, 319-21, 1924.

70) PONDER, E. & SASLOW, G. : The measurement of the diameter of erythrocytes. IV - The effect of anticoagulants and of variations in drying and fixing. Quart. J. Exper. Physiol., 19, 319-28, 1929,

71) PRICE-JONES, C. : (1) The variation in the size of red blood cells. Brit. Med. J., 1418f, 1910 : II.

(2) The diurnal variation in the sizes of red blood cells. J. Path. & Bact., 23, 371, 1920.

(3) Red cell diameters in one hundred healthy persons and in pernicious anaemia. J. Path. & Bact., 32, 479, 1929.

(4) The red cells in microcytic anaemia (Witts). J. Path. & Bact., 35, 759, 1932.

(5) Red blood cell diameters. Univ. Press. Oxford, 1933.

72) PRICE-JONES, C., VAUGHAN, J.M., GODDARD, H.M. : Haematological standards of healthy persons. J. Path. & Bact., 40, 503, 1935.

73) REIMANN, F. : Some critical remarks on the determination of the size and shape of the erythrocytes.
In : BOROVICZENY K.G.V. : Erythrocytometric methods and their standardization. Proc. Symposium XVIII, 9 th Congr. Europ. Soc. Haemat., Lisbon, 1963 (S.Karger, Basel/N-York, 1964).

74) REIMANN, F. & STRANCALI, S. : Kritische und methodische Bemerkungen zur Bestimmung der Grösse und Form der Erythrocyten. Blut, 4, 151-72, 1960.

75) REVEILLIERE, H. & PIETTE, M. : Détermination précise du diamètre érythrocytaire par planimétrie sur microphotographie. Ann. Biol. Clin. 19, 665-71, 1961.

76) SARAGEA, T. : Le diamètre des hématies de l'homme aux différents âges de la vie. Compte rendu Soc. de Biol., 86, 312, 1922.

77) SCHALM, L. : (1) The determination of the mean red blood cell diameter and its clinical value. Folia Haemat., 63, 34, 1939, 40.

(2) Le diamètre moyen des globules rouges comme élément de diagnostic dans la différenciation des ictères. Presse Méd., 48, 312, 1940.

78) SCHULTEN, H. : Lehrbuch der klinischen Hämatologie, Köln. V. Verbesserte Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1953, pp. 43-8.

79) SCHULTEN, H. & MALAMOS, B. : Über Veränderungen der roten Blutkörperchen bei Lebererkrankungen. Klin. Wchenschr., 1338, 1932.

80) STAVAM, P. : Method of estimating the diameter of erythrocytes. Lancet, 274, 827, 1958 I.

81) THOENES, W. : Dickenmessungen an normalen Erythrocyten. Acta Haemat. 22, 265-77, 1959.

82) TOMPKINS, E.H. : Measurement of erythrocytic diameters with phase microscopy. J. Lab. Clin. Med., 43, 212-4, 1954.

83) TZANCK, A. & BESSIS, M. : Un nouvel hémo-diffractomètre. Sang, 18, 71-6, 1947.

84) VAUGHAN, J. & GOODHART, G. : A comparative study of red cell diameter and red volume measurements. Lancet, 513, 1934.

85) WAITZ, R., WEILL, D. & MAYER S. : Diamètre globulaire frais et sec. V° Congr. International d'Hématologie, Paris, 1954, p. 280.

86) WELCKER, H. : Grösse, Zahl, Volum, Oberfläche und Farbe der Blutkörperchen bei Menschen und bei Thieren. Ztschr. f. Rat. Med., 20, 257, 1946 (cit. F. JØRGENSEN & WARBURG).

87) WELS, A. : Über den Einfluss der Trocknungszeit auf die Grösse des Erythrocytendurchmessers im Blutausstrich. Blut, 4, 301-3, 1958.

88) WESTERMANN, M.P., PIERCE, L.E., JENSEN, W.N. & STEELS, E. : A direct method for the quantitative measurement of red cell dimensions. J. Lab. Clin. Med., 57, 819-24, 1961.

89) WHITBY, L.E.H. & BRITTON, C.J.C. : Disorders of the blood. 7e Ed., London, 1953, J.A. Churchill Ltd.

90) WIECHMANN, E. & SCHURMEYER, A. : (1) Untersuchungen über den Durchmesser der roten Blutkörperchen. Dtsch. Arch. Klin. Med., 146, 362-82, 1925.

(2) Schwankungsbreite und Schwankungsart der Durchmesser menschlicher Erythrocyten. Dtsch. Arch. Klin. Med., 151, 257-65, 1926.

91) WINTROBE, M.M. : (1) The erythrocyte in man. Medicine, 9, 195, 1930.

(2) The size and hemoglobin content of the erythrocyte. J. Lab. & Clin. Med., 17, 899, 1932.

(3) Clinical hematology, 2nd ed. Philadelphia, 1947.

(4) Conception physiologique des troubles concernant les hématies et de leur diagnostic. Sang, 17, 5, 1956, p. 261-5.